

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 Ingeniería de Alimentos

**Comparación de dos métodos para la producción de pulpa de pitaya (*Hylocereus* sp.)
en polvo para que sean utilizadas como ingrediente colorante en alimentos**

Gabriela Rojas De Miguel

Carné: 993519

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio

Universidad de Costa Rica

San José, Costa Rica.

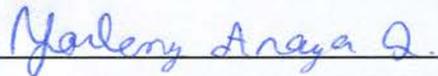
Febrero, 2012.

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.



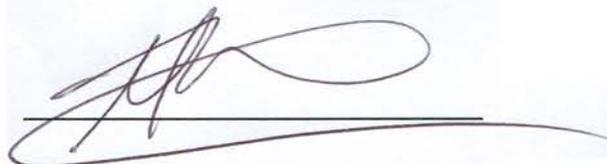
Ph. D. Patricia Esquivel Rodríguez
Directora del Proyecto



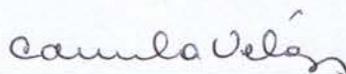
M.G.A. Yorlenny Araya Quesada
Asesora del Proyecto



Ph. D. Elba Cubero Castillo
Asesora del Proyecto



M. Sc. Marta Bustamante Mora
Presidente del Tribunal Examinador



M. Sc. Carmela Velázquez Carrillo
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,
A mi esposo, con todo mi amor,
por haber creído siempre en mí y haberme
brindado su apoyo, amor y dedicación en todo momento para alcanzar mis sueños.

Agradecimientos

A Diosito por todo lo que me ha dado, por lo que no me ha dado también, por haberme permitido llegar hasta acá y por todo su infinito amor que no descansa.

A los otros dos hombres más importantes de mi vida: Papi quien con su amor infinito me ha enseñado tantas cosas, que nombrar unas cuantas sería no hacerle justicia: Gracias Papo por ser sencillamente el mejor! Y a mi Tito Beto quien siempre ha creído en mí...

A Cristina, por llenar de luz y color mi vida, te amo princesa!. A mi mamá por haber estado siempre ahí para mí, dispuesta a ayudar en todo y más, gracias mami por todo, te amo!. A mi Tita Daysi quien es el mejor ejemplo que tengo, la mujer más fuerte, bondadosa, cariñosa, inteligente y quién es una caja de sorpresas que nunca deja de maravillarme. A la profe Patricia, por haber creído en mí, por darme su confianza y apoyo en todo momento, por su dedicación, paciencia y por todo lo que me enseñó durante este camino.

A Yorleny, por haberme dado su apoyo siempre, por sus buenos consejos, y por estar dispuesta a ayudar en todo cuanto esté a su alcance y más. A Elba por todas sus enseñanzas y por guiarme en este camino.

A Gaby Villalobos, quien con su gran ayuda en la parte experimental y con sus buenos consejos supo guiarme a lo largo de de este trabajo.

A Giova quien con su paciencia y sabiduría me ayudó siempre a dar un paso adelante, con su ayuda invaluable a lo largo de cada momento, con sus consejos y recomendaciones.

A Fernando Camacho y a Alonso Contreras por su ayuda, experiencia, buena voluntad y por estar siempre dispuestos a ayudar.

A todos ustedes: GRACIAS INFINITAS!!!!

Índice General

HOJA DE APROBACIÓN DEL TRABAJO FINAL DE GRADUACIÓN	II
DERECHOS DE PROPIEDAD INTELECTUAL	III
DEDICATORIA	IV
AGRADECIMIENTOS	V
ÍNDICE GENERAL	VI
ÍNDICE DE CUADROS	X
ÍNDICE DE FIGURAS	XI
RESUMEN	XII
I. JUSTIFICACIÓN	1
II. OBJETIVOS	5
2.1 OBJETIVO GENERAL	5
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	5
III. MARCO TEÓRICO	6
3.1 ORIGEN Y PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS DE LA PITAYA	6
3.2 COLORANTES EN ALIMENTOS	8
3.3 BETALAÍNAS	10
3.3.1 Estructura química y síntesis.....	10
3.3.1.1 Betacianinas	11
3.3.1.2 Betaxantinas	12
3.3.2 Características y estabilidad de las betalainas	13
3.4 MÉTODOS DE SECADO.....	15
3.4.1 Secado por atomización	16
3.4.2 Secado por liofilización.....	17
3.4.3 Cambios de color durante el secado o durante tratamientos térmicos	18
3.5 EL YOGURT, CARACTERÍSTICAS, APLICACIONES Y MERCADO	20
3.6 ANÁLISIS SENSORIAL EN LOS ALIMENTOS	21
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	23
4.1 LOCALIZACIÓN DEL TRABAJO.....	23
4.2 MATERIA PRIMA.....	23
4.3 ELABORACIÓN DE INGREDIENTES COLORANTES	23
4.3.1 Extracción de la pulpa	25

4.3.2 Maceración	25
4.3.3 Concentrado.....	25
4.3.4 Secado de la pulpa de pitaya	25
4.3.4.1 Pruebas Preliminares.....	25
4.3.4.2 Liofilización.....	26
4.3.4.3 Secado por atomización	26
4.4 DISEÑO EXPERIMENTAL PARA LA CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA DE LOS POLVOS LIOFILIZADOS Y SECADOS POR ATOMIZACIÓN	26
4.4.1 Análisis estadístico.....	27
4.5 APLICACIÓN DE LOS PIGMENTOS EN YOGURT.....	27
4.5.1 Pruebas preliminares para determinar la diferencia mínima detectable por el ojo humano en cuanto a degradación de color.	27
4.5.2 Estabilidad del colorante durante el almacenamiento	28
4.5.3 Diseño experimental para el estudio de almacenamiento.....	28
4.5.3.1 Análisis estadístico	29
4.6 Comparación sensorial de la aplicación de los polvos de pitaya obtenidos, con colorante comercial de remolacha roja en yogurt natural.....	29
4.6.1 Variable Color.....	29
4.6.2 Variable Sabor	29
4.6.3 Análisis sensorial del color y el sabor durante el tiempo de almacenamiento del yogurt coloreado con polvo de pitaya.	30
4.6.3.1 Variable Color:.....	30
4.6.3.2 Variable Sabor:	30
4.6.4 Análisis Estadístico.....	31
4.7 MÉTODOS DE ANÁLISIS.....	31
4.7.1 Determinación de humedad.....	31
4.7.2 Determinación de color del material deshidratado y del yogurt coloreado.....	31
4.7.3 Determinación del contenido total de betalainas en el polvo deshidratado	31
4.7.4 Determinación del perfil de betalainas en HPLC-UV.....	32
4.7.5 Determinación de 5-hidroxi-metilfurfural y pardeamiento no enzimático.	32
4.7.6 Determinación de ácido ascórbico.	32
V. RESULTADOS	33
5.1 COMPARACIÓN DEL EFECTO DE LA LIOFILIZACIÓN Y SECADO POR ATOMIZACIÓN SOBRE HUMEDAD, COLOR, CONCENTRACIÓN, PERFIL, Y DISTRIBUCIÓN DE LOS DIFERENTES TIPOS DE BETALAÍNAS, DE DOS POLVOS ELABORADOS A PARTIR DE CONCENTRADO DE PITAYA.	33
5.1.1 Comparación de la concentración de betalainas, humedad y color, de los polvos obtenidos a partir de concentrado de pitaya, por los métodos de deshidratación por liofilización y secado por atomización.....	33

5.1.2 Comparación de los perfiles de la betacianinas presentes en los polvos obtenidos mediante liofilización y secado por atomización.	34
5.2 EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL SECADO POR ATOMIZACIÓN Y DE LA LIOFILIZACIÓN SOBRE EL CONTENIDO DE ÁCIDO ASCÓRBICO, 5-HIDROXIMETIL-FURFURAL Y OSCURECIMIENTO NO ENZIMÁTICO.	36
5.2.1 Comparación del efecto del secado por atomización y de la liofilización, en ambos tipos de polvo estudiados, sobre la cantidad de ácido ascórbico y 5-hidroximetil-furfural.....	36
5.3 COMPARACIÓN DEL EFECTO DEL SECADO POR ATOMIZACIÓN Y DE LA LIOFILIZACIÓN, EN AMBOS TIPOS DE POLVO ESTUDIADOS, SOBRE EL OSCURECIMIENTO NO ENZIMÁTICO.....	36
5.4 EVALUACIÓN DEL COLOR DE MUESTRAS YOGURT CON ADICIÓN DE LOS INGREDIENTES COLORANTES DE PITAYA EN FORMA DE POLVO DURANTE EL ALMACENAMIENTO.	37
5.5 COMPARACIÓN SENSORIAL DE LA APLICACIÓN DE INGREDIENTES COLORANTES A BASE DE PITAYA CONTRA UN COLORANTE NATURAL DE REMOLACHA ROJA.	44
5.5.1 Determinación de la diferencia mínima detectable por el ojo humano en cuanto a concentración de color.....	44
5.5.2 Comparación sensorial de la aplicación de los polvos de pitaya obtenidos en yogurt coloreado con polvo liofilizado, yogurt coloreado con polvo atomizado y yogurt coloreado con polvo comercial de remolacha roja.....	45
5.5.2.1 Variable color	45
5.5.2.2 Variable Sabor	47
VI DISCUSIÓN.....	48
6.1 DETERMINACIÓN DE COLOR DEL MATERIAL DESHIDRATADO Y DEL YOGURT COLOREADO.....	48
6.2 CONTENIDO DE BETALAÍNAS	50
6.3 COMPARACIÓN DE LOS PERFILES DE LA BETACIANINAS PRESENTES EN LOS POLVOS OBTENIDOS MEDIANTE LIOFILIZACIÓN Y SECADO POR ATOMIZACIÓN.	50
6.4 ACIDO L-ASCÓRBICO E HMF	51
6.5 PARDEAMIENTO NO ENZIMÁTICO	52
6.6 ESTUDIO DE ALMACENAMIENTO Y MEDICIÓN DEL COLOR	53
6.7 COMPARACIÓN SENSORIAL DE LA APLICACIÓN DE INGREDIENTES COLORANTES A BASE DE PITAYA CONTRA UN COLORANTE NATURAL DE REMOLACHA ROJA.....	55
VII. CONCLUSIONES.....	58
VIII. RECOMENDACIONES.....	61
IX. BIBLIOGRAFÍA CITADA	62
APÉNDICE A. COMPARACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE BETALAÍNAS, HUMEDAD Y COLOR, DE LOS POLVOS OBTENIDOS A PARTIR DE CONCENTRADO DE PITAYA, POR LOS MÉTODOS DE DESHIDRATACIÓN POR LIOFILIZACIÓN Y SECADO POR ATOMIZACIÓN.	72

APÉNDICE B. T STUDENT PARA LA COMPARACIÓN DE LOS PARÁMETROS ESTUDIADOS PARA AMBOS TIPOS DE POLVOS.	78
APÉNDICE C. MEDICIONES SENSORIALES PARA LOS DIFERENTES ANÁLISIS REALIZADOS	81

Índice de Cuadros

Cuadro 1. Comparación de los parámetros de color L^* , a^* , b^* , tono (h°) y saturación (croma), además de concentración de betalaínas (mg/l) y humedad entre los polvos obtenidos mediante liofilización y secado por atomización ¹	33
Cuadro 3. Comparación de los porcentajes de cada tipo de betacianina entre los polvos obtenidos mediante liofilización y secado por atomización ¹	35
Cuadro 4. Comparación del contenido de ácido ascórbico, e 5-hidroximetil-furfural (hmf) ¹ ..	36
Cuadro 5. Comparación de las características del oscurecimiento no enzimático ¹	37
Cuadro 6. Regresión lineal de los parámetros de color analizados durante el almacenamiento entre los polvos obtenidos mediante liofilización y secado por atomización.....	39
Cuadro 7. Concentraciones de colorante utilizadas, número de aciertos en detectar la muestra diferente, probabilidades asociadas a la cantidad de aciertos obtenida según la cantidad de jueces utilizada y diferencias porcentuales entre cada concentración y 0,28%.	45
Cuadro 8. Valores obtenidos de la diferencia entre valores instrumentales, en el par de concentraciones utilizadas, en las que los jueces fueron capaces de percibir la diferencia mínima de 0,02 (0,30% y 0,28%).	45
Cuadro 9. Resultado de comparación pareada 2-afc en la comparación de dos muestras de yogurt comercial coloreadas con polvo de pitaya liofilizado y secado por atomización con un nivel de 5% de significancia.....	46
Cuadro 10. Resultado de prueba de preferencia en la comparación de dos muestras de yogurt comercial coloreadas con polvo de pitaya liofilizado y secado por atomización.....	46
Cuadro 11. Comparación del sabor de dos muestras de yogurt comercial coloreadas una con polvo de pitaya y la otra con concentrado de remolacha mediante una prueba de triángulo.	47

Índice de Figuras

Figura 1. Estructura química de la tirosina.....	10
Figura 2. Estructura química del ácido betalámico	10
Figura 3. Estructura química del ciclo – dopa	11
Figura 4. Estructura química de las betacianinas.....	11
Figura 5. Estructura química básica de las betaxantinas	12
Figura 6. Metodología desarrollada para la producción de polvos colorantes a partir de pitaya roja (<i>hylocereus sp.</i>).....	24
Figura 7. Perfil de separación de betacianinas mediante hplc para un polvo deshidratado mediante liofilización.	34
Figura 8. Comportamiento del parámetro l^* , para dos tipos de polvos secados por liofilización y por atomización, durante quince días de almacenamiento.....	40
Figura 9. Comportamiento del parámetro a^* , para dos tipos de polvos secados por liofilización y por atomización, durante quince días de almacenamiento.	41
Figura 10. Comportamiento del parámetro b^* , para dos tipos de polvos secados por liofilización y por atomización, durante quince días de almacenamiento.	41
Figura 11. Comportamiento del parámetro cromático, para dos tipos de polvos secados por liofilización y por atomización, durante quince días de almacenamiento.	42
Figura 12. Comportamiento del ángulo h° , para dos tipos de polvos secados por liofilización y por atomización, durante quince días de almacenamiento.....	42
Figura 13. Comportamiento del δ_e para dos tipos de polvos secados por liofilización y por atomización, durante quince días de almacenamiento.	43
Figura 14. Polvo obtenido a partir de jugo concentrado de pitaya (<i>hylocereus sp.</i>) Mediante secado por aspersión.....	43
Figura 15. Polvo obtenido a partir de jugo concentrado de pitaya (<i>hylocereus sp.</i>) Mediante secado por liofilización.	44

Resumen

Rojas De Miguel, Gabriela.

Comparación de dos métodos para la producción de pulpa de pitaya (*Hylocereus* sp.) en polvo para que sean utilizadas como ingrediente colorante en alimentos

Tesis Tecnología de Alimentos.-San José, CR:

G. Rojas., 2012

Se realizó una comparación de dos métodos de deshidratación, liofilización y atomización, para la producción de pulpa de pitaya (*Hylocereus* sp.) en polvo, en donde se estudió la estabilidad de las betalaínas. Se evaluó el efecto de ambos tipos de secado sobre la cantidad de ácido ascórbico, pardeamiento no enzimático y 5-hidroximetil-furfural. Además se valoró la estabilidad del color impartido por los polvos colorantes durante el almacenamiento, así como el desempeño sensorial de estos polvos como ingrediente colorante en yogurt natural.

Se evaluaron los cambios cromáticos que se producen con ambos métodos sobre el color de los polvos de pitaya y se encontró que el polvo atomizado es mucho más claro, menos azul, y menos saturado en cuanto a color, que el polvo liofilizado.

También se encontró un mayor contenido de betalaínas en el polvo liofilizado que en el polvo atomizado. El perfil de betalaínas de ambos tipos de polvo no presentó diferencias significativas, mientras que el contenido de ácido ascórbico presentó una mayor disminución en el polvo secado por atomización. El polvo secado por atomización no presentó evidencia de formación de compuestos propios de la reacción de Maillard, ni de formación de 5-HMF, los mismos también están ausentes del polvo liofilizado.

Durante el tiempo de almacenamiento en la aplicación en yogur natural, el polvo liofilizado mantuvo colores más rojos (a^*) que el polvo secado por atomización y los parámetros h° y b^* no presentaron cambios estadísticamente significativos.

En cuanto a la evaluación sensorial de ambos tipos de polvo se tuvo que los panelistas detectaron una diferencia en el color cuando la diferencia en concentración de polvo

de pitaya es de 0,02% (m/m) en yogurt natural y no se pudo detectar una diferencia entre un yogurt coloreado con polvo liofilizado y uno con polvo secado por aspersion. En las pruebas de preferencia aplicadas a los panelistas se tuvo que el yogurt coloreado con pitaya se prefiri6 sobre el yogurt de fresa comercial y el yogurt coloreado con concentrado de remolacha. Adem6s los jueces pudieron percibir un sabor diferente entre el yogurt coloreado con concentrado de remolacha y el yogurt coloreado con polvo de pitaya.

PITAYA; HYLOCEREUS; ESTABILIDAD; COLORANTES; BETALAINAS; YOGURT

Patricia Esquivel

Escuela de Tecnología de Alimentos

I. Justificación

En la actualidad, el mercado de productos alimenticios sigue una tendencia cada vez más marcada hacia el consumo de productos naturales y sin conservantes químicos, por lo que hoy se buscan nuevas alternativas (Zvitov *et al.*, 2007). El color en los alimentos juega un papel determinante en la aprobación o no por parte del consumidor. Sin embargo, los colorantes artificiales han sido criticados debido a que se les ha relacionado con enfermedades como cáncer, alergias y con el síndrome de déficit atencional en niños, de ahí que la búsqueda de nuevas fuentes para la extracción de pigmentos ha tomado importancia (Kumpulainen & Salonen, 1996).

En el mercado europeo se reporta un incremento anual del 10-15% en el consumo de productos coloreados en forma natural, estos alimentos son cada vez más buscados por consumidores que buscan beneficios adicionales, como son las propiedades funcionales, relacionadas con el consumo de alimentos con altos contenidos de antioxidantes (Pszczola, 2002; Anderson, 2003; Stintzing & Carle, 2004).

Con el fin de restaurar el color perdido durante el procesamiento o prevenir pérdidas durante el almacenamiento se han estudiado fuentes naturales de pigmentos estables (Kumpulainen & Salonen, 1996; Stintzing *et al.*, 2003).

Uno de los pigmentos con propiedades antioxidantes ampliamente estudiado son las betalaínas (Stintzing *et al.*, 2003, Esquivel *et al.*, 2007c). Según Santos *et al.* (2005), las betalaínas cada vez adquieren más importancia dentro de la industria alimenticia. Henry (1996) estudió la aplicación de betalaínas como pigmentos en productos tales como yogurt, helados y bebidas frías entre otros, ya que entre sus cualidades se destaca una gama de colores desde el amarillo hasta el violeta. El alto coeficiente de extinción molar relacionado con el poder de tinción del colorante, así como su estabilidad en un ámbito amplio de pH, de 3 a 7, hace que estos pigmentos puedan competir con los colorantes artificiales (Schwartz *et al.*, 1983; Leathers *et al.*, 1992; Lucas *et al.*, 2001.; Stintzing *et al.*, 2003; Esquivel *et al.*, 2007b; Moreno *et al.*, 2008).

La fuente natural de betalaínas más utilizada en el mundo, en la gama del rojo-morado, es la remolacha. El uso de la remolacha como fuente de pigmentos tiene

desventajas, tales como un sabor y olor “a tierra”, que es impartido por diferentes pirazinas y geosminas, además se han observado altas concentraciones de nitratos, lo que se ha asociado con la formación de nitrosaminas carcinogénicas limitando el uso de la remolacha como fuente de betalaínas. Otra desventaja que se asocia con la extracción de pigmentos a partir de la remolacha es la alta carga microbiológica relacionada con ésta (Stintzing & Carle, 2004; Vaillant *et al.*, 2005; Esquivel *et al.*, 2007b; Castellar *et al.*, 2008).

Una fuente promisorio de betalaínas, que no presenta los inconvenientes de la remolacha roja es la pitaya (*Hylocereus* spp.). Esta fruta crece naturalmente en las regiones tropicales de todo el continente americano, y una de sus características más importantes es el alto contenido de betalaínas (Stintzing *et al.*, 2003; Vaillant *et al.*, 2005; Esquivel *et al.*, 2007a).

Debido a que la pitaya es un fruto relativamente insípido, su aplicación como ingrediente colorante se considera una alternativa promisorio para la industria alimentaria y además, debido a que es un ingrediente natural, se puede evitar su declaración como aditivo colorante. Una alternativa para el desarrollo de estos ingredientes a partir de pitaya es la elaboración de polvos deshidratados. El secado brinda una mayor vida útil y estabilidad microbiológica debido, entre otros factores, a un bajo Aw. Por otro lado, representa una gran ventaja económica en cuanto al costo de transporte y manejo. Debido a la alta estabilidad de las betalaínas en condiciones de baja Aw, se estudiaron dos formas de deshidratación como una alternativa de procesamiento para dichos pigmentos (Roustapour *et al.*, 2006; Moßhammer *et al.*, 2006; Cai & Corke, 2000).

El secado por atomización, según Obón *et al.* (2008), es un método muy utilizado para producir polvos como colorantes, con el que se puede crear una variedad de nuevos productos con el fin de diversificar el mercado de las plantas no tradicionales y sus derivados para producir alimentos dentro de la categoría de “alimentos funcionales” (Rodríguez *et al.*, 2005; Moreno *et al.*, 2008).

Sin embargo, el secado por atomización de jugos de frutas, que por lo general contienen una alta cantidad de azúcares, hace que el fluido tienda a presentar

características termoplásticas, y por lo que se tiende a adherir en las paredes de la cámara de secado. Debido a esto se utilizan diversos aditivos como almidón y maltodextrinas, que recubren las partículas con el fin de minimizar estos posibles problemas. La maltodextrina con diferentes grados de polimerización es el aditivo más utilizado ya que su costo es menor y presenta buenas propiedades de protección al líquido a encapsular (Cai & Corke, 2000; Roustapour *et al.*, 2006; Lokuwan, 2007; Obón *et al.*, 2008).

Algunas de las ventajas de este método de secado es que el colorante se somete a altas temperaturas durante muy corto tiempo, por lo que diversos autores lo califican como la mejor manera de secar un pigmento vegetal sensible, ya que propiedades importantes como color, sabor y nutrientes no termoestables se retienen en porcentajes muy altos. Además si se compara con otros métodos de secado como la liofilización es considerablemente más barato (Cai & Corke, 2000; Rodríguez *et al.*, 2005).

La liofilización es recomendada por algunos autores como una alternativa para la conservación de pigmentos termolábiles y fotosensibles, debido a que se lleva a cabo a temperaturas y presiones bajas, logrando una disminución del A_w , por lo que en los pigmentos sensibles, la vida útil puede aumentar (Geankoplis, 1998; Villoria *et al.*, 2002).

Sin embargo, el secado por este método es una forma de deshidratación de alimentos bastante costosa, debido a la velocidad lenta de secado y a la necesidad de usar vacío, por lo que recientemente los estudios realizados en cuanto a estabilidad de pigmentos vegetales se concentran en métodos de secado como la atomización (Cai & Corke, 2000).

De acuerdo al estudio realizado por Moßhammer *et al.* (2006), cuando los pigmentos naturales son sometidos a tratamientos con altas temperaturas, el color y la estabilidad de los mismos se ve comprometida debido a reacciones de pardeamiento no enzimático (Maillard) y a la producción de 5-hidroxi-metilfurfural. Diversos estudios reportan que el ácido ascórbico tiene un efecto conservador sobre las betacianinas durante tratamientos térmicos en matrices como jaleas y bebidas lácteas, sin embargo,

el contenido de ácido ascórbico se ve seriamente reducido, por lo que la búsqueda de un método con el que se pueda conservar la mayor cantidad de ácido ascórbico es de suma importancia (Cai & Corke, 1999; Kirsten *et al.*, 2006).

Se ha estudiado la aplicación de pigmentos vegetales extraídos de plantas pertenecientes a la familia de las cactáceas, como por ejemplo la *Opuntia ficus-indica*, en diversas matrices alimenticias, tales como el yogurt. Este tipo de pigmento se convierte en una alternativa natural para lograr incorporar ingredientes que brinden características funcionales, como por ejemplo, capacidad antioxidante en este tipo de alimentos (Moßhammer *et al.*, 2005; Santos *et al.*, 2005; Le Bellec *et al.*, 2006; Obón *et al.*, 2008).

Debido a la sensibilidad térmica de las betalaínas se evaluará el secado por atomización y la liofilización, como alternativa para la producción de polvos que puedan utilizarse como ingredientes colorantes en una matriz de yogurt natural.

II. Objetivos

2.1 Objetivo General

Comparar la estabilidad de las betalaínas en dos productos deshidratados obtenidos a partir de pulpa de pitaya mediante los métodos de atomización y liofilización, y evaluar su aplicación en un producto lácteo como yogurt natural.

2.2 Objetivos específicos

Comparar la estabilidad de las betalaínas de la pulpa concentrada de pitaya en cuanto a color, concentración y perfil de betalaínas, durante la liofilización y el secado por atomización.

Evaluar el efecto del secado por atomización y de la liofilización sobre el contenido de ácido ascórbico, 5-hidroximetil-furfural y oscurecimiento no enzimático.

Evaluar la estabilidad del color de un yogurt coloreado con pulpa de pitaya en polvo, mediante el estudio de estabilidad durante el almacenamiento.

Comparar sensorialmente la aplicación de los polvos de pitaya obtenidos, con polvo comercial de remolacha roja en yogurt natural comercial.

III. Marco Teórico

3.1 Origen y principales características de la pitaya

La pitaya roja (*Hylocereus spp.*) es un cactus cultivado en climas tropicales y sub tropicales, es nativa de las regiones de norte, centro y sur América. Actualmente se tienen plantaciones en países tan diversos como México, Nicaragua e Israel, en donde desde el año 1994 se viene desarrollando su cultivo en el desierto de Negev, también en Australia, Colombia y Vietnam entre otros (Castillo *et al.*, 2003; Le Bellec *et al.*, 2006).

En Europa su estudio es mayor cada día, debido a que es uno de los cultivos más promisorios en cuanto a su aprovechamiento económico. Además es un fruto exótico altamente consumido en México, Guatemala, Nicaragua, Colombia y Ecuador, debido a sus características físicas, sensoriales y nutricionales (Castillo *et al.*, 2003; Le Bellec *et al.*, 2006).

También en Asia, este fruto ha ganado popularidad en países como Vietnam, Taiwan y Malasia, en donde se conoce popularmente como “fruto del dragón” debido a su apariencia, cubierta con una especie de escamas en forma de aletas que la recubren en su totalidad, que tienen coloraciones rojizas-verdosas (Azis *et al.*, 2009).

Los cultivares cuentan con raíces aéreas que requieren de soporte, pues su conformación les impide sostenerse a sí mismas, puede crecer entre los árboles, troncos, piedras y muros, sus tallos son largos triangulares, colgantes y trepadores, pueden llegar a alcanzar entre 8 y 10 m de altura. Así, tienen varios hábitos de crecimiento y pueden ser trepadoras, rupícolas, hemiepífitas y epífitas. Las plantas cultivadas son terrestres trepadoras, independientemente de que parte de sus raíces aéreas se dirijan al suelo. Sus tallos o cladodios tienen tres aristas o costillas, son suculentos y tienen grupos de espinas de 2 a 4 mm de largo en las areolas ubicadas en sus bordes (Centurión *et al.*, 2008).

Las pitayas son plantas que abren sus flores sólo por las noches, lo cual constituye una adaptación fisiológica para evitar la pérdida de agua por transpiración durante el día,

cuando las temperaturas son elevadas. Las flores son hermafroditas, de forma acampanada, blancas y de gran tamaño (20 a 30 cm). Poseen aproximadamente 20 sépalos, 20 estructuras de transición de sépalos a pétalos y 20 pétalos; más de 1000 estambres y un ovario ínfero (Mizrahi & Nerd, 1999; Le Bellec *et al.*, 2006; Esquivel, 2007).

El fruto de la pitaya es una baya de forma ovoide, redondeada o alargada, su cáscara presenta coloraciones rojo-violeta y cuenta con pequeñas formaciones salientes llamadas brácteas u orejas escamosas, las cuáles se distribuyen a lo largo del fruto en forma helicoidal. La cantidad y el tamaño de las brácteas varían según la variedad. Su pulpa es mucilaginosa y ligeramente dulce, su aroma es muy suave y delicado, su color varía desde el blanco hasta el rojo-violáceo. El largo del fruto varía de 8 a 12 centímetros, y su ancho varía entre 6 a 10 centímetros, su peso es de 200 a 350 gramos (Zee & Nishina, 2004).

Desde tiempos precolombinos este fruto ha sido utilizado como colorante, medicina y alimento. Actualmente es consumida como refresco o fruta directamente, sin ningún tipo de procesamiento. Esta versatilidad le da un gran potencial para explotar sus propiedades sensoriales de dulzura y atractivo color. El color de la cáscara y la pulpa de la pitaya varía según la región, siendo ambas rojo - violeta en los países subtropicales (parte sur de México, Guatemala y Nicaragua) y de cáscara amarilla y pulpa color blanca en los países tropicales (Colombia y Ecuador) (Mizrahi *et al.*, 1997; Raveh *et al.*, 1998; Flores & Corrales, 2003).

La pitaya ha adquirido una gran importancia en mercados extranjeros especialmente Europa y Estados Unidos (Gutiérrez, 2009). El término pitaya incluye en realidad diferentes especies del género *Hylocereus*, y tienen marcadas diferencias entre sí. De las muchas especies descritas dieciséis son endémicas de América Latina. En el mercado se puede encontrar por ejemplo *H. undatus*, que cuenta con cáscara roja pero su pulpa es blanca, por el contrario *H. polyrhizus* e *H. costaricensis* tienen la cáscara roja y su pulpa tiene coloraciones rojo-violeta, siendo estas últimas las especies mayormente cultivadas en el mundo. En los mercados europeos y estadounidenses, se comercializa su pulpa con el fin de obtener jugos, mermeladas,

helados, y sobre todo como ingrediente colorante, ya que la característica primordial de la pitaya roja es su alto contenido de betalaínas (Mizrahi & Nerd, 1999; Le Bellec *et al.*, 2006; Esquivel *et al.*, 2007b).

3.2 Colorantes en alimentos

El color en los alimentos juega un papel determinante en cuanto a la aceptación o rechazo de los mismos. Las variaciones en la intensidad del color pueden dar al consumidor una idea de la frescura y calidad, que le permite decidir entre las distintas opciones que se le presenten en el mercado. El color interactúa con otras propiedades como la textura, el aroma y el sabor. Además el consumidor conoce y asocia los colores que debe o no tener un producto fresco o procesado. Aunque un producto tenga una gran calidad nutricional, excelente sabor y textura, no será ingerido a menos que presente el color que el consumidor considere como correcto (Farré, 1982; Desrosier, 1989).

Con el fin de restituir el color en los alimentos que llevaban algún tipo de procesamiento para su conservación o consumo, a principios del siglo XX, se sintetizó una gran cantidad de colorantes para ser aplicados en alimentos, pero muchos de ellos contenían metales pesados en su formulación, como por ejemplo plomo, cobre y arsénico, por lo que constituían un riesgo para la salud de los consumidores, y es a raíz de esto que se empiezan a gestar las leyes que regulan su utilización en alimentos (Hernández, 1996; Mandujano, 2006).

Los colorantes sintetizados químicamente tienen algunas ventajas sobre los colorantes naturales, como por ejemplo, estabilidad e intensidad de color; sin embargo, en los mercados internacionales existe una tendencia creciente hacia la utilización de productos naturales. En la Unión Europea el consumo de aditivos alimentarios de origen natural se ha incrementado con mayor velocidad que en los Estados Unidos. Un ejemplo claro de ello es el colorante natural conocido como carmín o cochinilla que en Perú, principal productor de éste colorante natural, sus exportaciones pasaron de un promedio de 236 ton/año, en 1980, a un promedio de 1700 ton/año en 1990 (Hernández, 1996; Downham & Collins, 2000; Mandujano, 2006).

Existen cuatro clases de colorantes naturales de origen vegetal utilizados industrialmente, entre ellos se encuentran los carotenoides, responsables de las coloraciones amarillas, naranjas y rojas de frutas y verduras, la clorofila que imparte el color verde a los vegetales, y es según estudios el pigmento más abundante en la naturaleza, las antocianinas, responsables de los colores rojo, anaranjado, azul y morado de las uvas, manzanas y fresas, y las betalaínas, que tienen coloraciones que van desde el amarillo hasta el violeta (Stintzing *et al.*, 2003; Esquivel *et al.*, 2007c).

Dentro de las ventajas de utilizar pigmentos naturales como las betalaínas en la coloración de los alimentos, se puede encontrar una serie de beneficios para la salud. Vaillant *et al.* (2005), indican que la pulpa de pitaya no posee un alto contenido de vitamina C, pero sí tiene una gran capacidad antioxidante debido al alto contenido de betacianinas y compuestos fenólicos, hecho que es de suma importancia ya que en estudios epidemiológicos se tiene una alta correlación entre la ingesta de alimentos ricos en compuestos antioxidantes y la prevención de enfermedades como el cáncer, arterosclerosis, diabetes, y artritis, (Kaur & Kapoor, 2001)

Las betalaínas poseen una amplia aplicación en el campo de la medicina, ya que proveen protección en contra a los desordenes ocasionados por estrés en humanos, ya que cuando se consume regularmente en la dieta inhibe la oxidación lipídica y la peroxidación (Kanner *et al.*, 2001). Además se caracterizan por presentar efectos anti-inflamatorios (Gentile *et al.*, 2004) y por tener actividad antirradical y antioxidante (Butera *et al.*, 2002; Cai *et al.*, 2003; Stintzing *et al.*, 2005).

Se han estudiado diferentes fuentes para la obtención de pigmentos que puedan ser utilizados como colorantes naturales, la pitaya roja (*Hylocereus spp.*) es una de ellas, debido a su alto contenido de betalaínas (Esquivel *et al.*, 2007c).

3.3 Betalaínas

3.3.1 Estructura química y síntesis

Las betalaínas son compuestos orgánicos, solubles en agua, N-heterocíclicos, sintetizados a partir de tirosina (Figura 1) por condensación del ácido betalámico (Figura 2). Este último se comporta como intermediario en la formación de todas las betalaínas conocidas, ya sea con dihidroxifenilalanina (DOPA) o derivados, para formar compuestos llamados betacianinas, de color rojo-violeta o con aminoácidos y aminas derivadas de éstos para formar sustancias llamados betaxantinas que tienen coloraciones amarillo-naranja. No se ha observado la presencia tanto de betalaínas como de antocianinas, dentro de una misma planta, por lo que diversos autores proponen que las vías de síntesis de ambos grupos de pigmentos son mutuamente excluyentes (Grotewold, 2006; Stintzing & Carle, 2007; Moreno *et al.*, 2008).

Wybraniec & Mizrahi (2002), encontraron que la betanina y la filocactina fueron las betacianinas predominantes en todas las frutas de las especies de la pitaya roja.

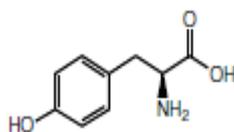


Figura 1. Estructura química de la tirosina

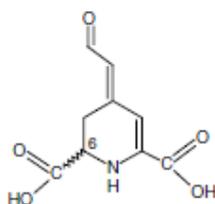


Figura 2. Estructura química del ácido betalámico

3.3.1.1 Betacianinas

La conversión de tirosina a DOPA, se lleva a cabo a través de la enzima fenoloxidasa, que oxida el DOPA a dopaquinona, formando ciclo-DOPA (Figura 3), que es el compuesto que se conjuga con el ácido betalámico para formar las betacianinas.

Las betacianinas son ópticamente activas debido a que cuentan con dos carbonos quirales C_2 y C_{15} (Figura 4). Son altamente iónicas por contener tres grupos carboxilos (dos de ellos con una pKa de 3.4 y el otro con un pKa de 2.0), además de un grupo fenólico (pKa de 8.5). Las betacianinas más simples son las betanina e isobetanina (Mandujano, 2006; Moreno *et al.*, 2008).

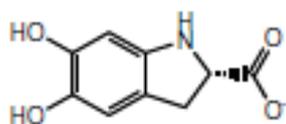


Figura 3. Estructura química del ciclo – Dopa

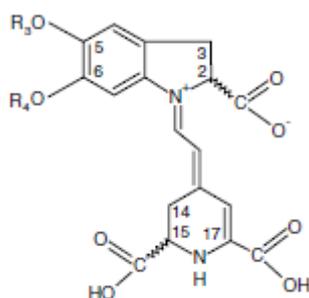


Figura 4. Estructura química de las betacianinas

Existen betacianinas tanto acetiladas, como no acetiladas. Dentro de las primeras se encuentran la filocactina [betanidina 5-O-(6'-O-malonil)- β -glucósido], y la hilocerena [betanidina 5-O-(6'-O-3-hidroxi-3-metilglutaril)- β -glucósido] con sus respectivos C_{15} isómeros, y dentro de las no acetiladas se encuentran la betanina, e iso-betanina que es el diastereoisómero C_{15} correspondiente (Herbach *et al.*, 2004).

Las acetiladas tienen una mayor estabilidad reportada, según Schliemann y Strack (1998), que sus homólogas no acetiladas, ya que la reacción de acetilación hace que la velocidad de racemización se reduzca, de ahí se deduce que la mayor estabilidad de las betacianinas acetiladas, se debe probablemente al agrupamiento intramolecular de los residuos acílicos (Schliemann & Strack, 1998).

3.3.1.2 Betaxantinas

Las betaxantinas son compuestos amarillo-naranja, producto de la condensación del ácido betalámico con aminoácidos como serina o valina o derivados de aminoácidos como, por ejemplo, la 3-metoxitiramina y dependiendo de la estructura particular del grupo amino con el que se conjuga el ácido betalámico, las absorciones máximas reportadas para éste tipo de compuestos varían entre los 460 y 480 nm (Herbach *et al.*, 2006a; Moreno *et al.*, 2008).

Algunos ejemplos de éste tipo de compuestos son la vulgaxantina I, la indicaxantina que es el pigmento que predomina en la *Opuntia spp.*, y la betaxantina que es la que predomina en la remolacha roja (Herbach *et al.*, 2006a; Moreno *et al.*, 2008). La estructura básica de las betaxantinas se puede apreciar en la Figura 5.

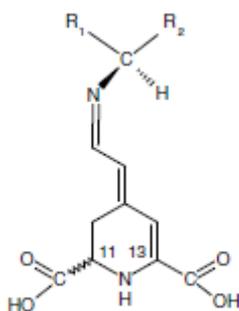


Figura 5. Estructura química básica de las betaxantinas

3.3.2 Características y estabilidad de las betalaínas

Las betalaínas, están localizadas dentro de las vacuolas de las células, las plantas que contienen estos pigmentos se limitan a diez familias del orden Centrospermae las cuales son: Chenopodiaceae, Amaranthaceae, Portulacaceae, Nyctaginaceae, Phytolacaceae, Stegnospermaceae, Arizoaceae, Bascallaceae, Mesembryanthemaceae, Cactaceae y Didieraceae (Delgado & Paredes, 2002; Castellanos & Yahia, 2008).

Nutricionalmente las betalaínas son compuestos fitoquímicos que tienen una presencia muy limitada dentro de nuestra dieta, ya que las fuentes vegetales que las contienen son muy pocas, por ejemplo la remolacha, la acelga, el amaranto, el nopal, la pitaya, y algunos tubérculos (Moreno et al., 2008).

Según Santos *et al.* (2005), las betalaínas cada vez adquieren más importancia dentro de la industria alimenticia y se han utilizado en productos tales como yogurt, helados y bebidas frías entre otros, ya que entre sus cualidades se destaca una gama de colores desde el amarillo hasta el violeta. Las betalaínas según Henry, (1996) y Esquivel *et al.* (2007c), presentan un alto coeficiente de extinción molar, que está relacionado con la capacidad de tinción del pigmento, por lo que perfectamente pueden competir con los colorantes artificiales.

Una característica importante de los compuestos betalaínicos es que absorben fuertemente la luz. Las betacianinas exhiben un máximo de absorción de luz aproximadamente a 537-538 nm y las betaxantinas en 480 nm. La temperatura juega un papel preponderante en la estabilidad de estos compuestos ya que se ha determinado que son muy termolábiles y su velocidad de degradación se incrementa con la temperatura, siendo las betaxantinas mucho más sensibles que las betacianinas (Strack *et al.*, 2003; Azeredo, 2008).

Las betalaínas se ven afectadas por la presencia de oxígeno; la reacción entre betalaínas y oxígeno molecular parece ser una de las principales causas de la pérdida del pigmento. Se ha observado que el oxígeno causa un oscurecimiento del producto y la pérdida de la capacidad colorante. Su degradación en presencia de oxígeno puede llegar a ser hasta de un 15 % en solo seis días (Attoe & Von Elbe, 1982).

Debido a su sensibilidad al oxígeno, se han estudiado diferentes compuestos antioxidantes con el fin de mejorar la estabilidad de estos pigmentos (Pasch & Von Elbe, 1979; Reynoso *et al.*, 1997). También Vaillant *et al.* (2005) han observado que el jugo de la pitaya roja tiene una alta capacidad antioxidante.

De diversos compuestos antioxidantes estudiados, se encontró que los compuestos que contienen azufre y los fenólicos no mostraron un mayor efecto en la estabilización de las betalaínas, sin embargo la utilización de ácido ascórbico e isoascórbico presentó los mejores resultados (Attoe & Von Elbe, 1985).

Es importante señalar que muchos sistemas alimenticios pueden actuar como estabilizantes de colorantes naturales, debido a su composición química. Las mezclas de azúcares como la sacarosa, fructosa y glucosa ejercen un excelente efecto protector sobre los pigmentos colorantes. También se ha estudiado mezclas de azúcares adicionadas con ácido ascórbico, metasulfito de sodio y butilhidroxianisol (BHA) y se encontró que la presencia de éstos compuestos tienen un efecto protector en estos pigmentos (Rodríguez, 1985).

Por otro lado las betalaínas no tienen toxicidad reportada. Se consideran sustancias no alergénicas y presentan una gran estabilidad en un rango de pH comprendido entre 3,0 y 7,0. En contraposición las antocianinas son pigmentos naturales también utilizados en la coloración de alimentos, pero que no tienen la capacidad de retener el color en el rango de pH anteriormente mencionado. Lo anterior hace que las betalaínas sean apropiadas para trabajar en una amplia variedad de matrices alimentarias, (especialmente en alimentos de baja acidez) con el fin de sustituir una gran diversidad de colorantes artificiales (Schwartz *et al.*, 1983; Leathers *et al.*, 1992; Lucas *et al.*, 2001).

La fuente de compuestos colorantes naturales más utilizada en el mundo en la gama del rojo-morado es la remolacha. Esta tiene un alto contenido de betalaínas. En contraste con la pitaya el espectro de color del pigmento extraído de la remolacha es reducido. Diferentes autores discuten sobre la presencia de sabores y olores inapropiados (sabor y olor "terroso") impartido por diferentes pirazinas y geosminas (Stintzing & Carle, 2004; Esquivel *et al.*, 2007c).

Aparte del sabor extraño que imparten los concentrados de remolacha, se tiene una alta cantidad de compuestos nitrogenados, que se asocian con la formación de nitrosaminas carcinogénicas que en el cuerpo humano. Estos compuestos son asociados a padecimientos como el cáncer, por lo que la sustitución de la remolacha por los extractos colorantes de la pitaya toma cada día mayor importancia (Stintzing & Carle, 2004; Vaillant *et al.*, 2005; Esquivel *et al.*, 2007c; Castellar *et al.*, 2008).

Otra característica importante de los pigmentos extraídos de la pitaya es que presenta un sabor muy ligero, por lo que el sabor de la matriz alimentaria en donde se utilizan no se ve afectado por la adición de los mismos. Además Vaillant *et al.* (2005) encontraron que en comparación con la remolacha, presenta colores rojo-morados más puros. Considerando lo anterior y la alta capacidad antioxidante, los pigmentos extraídos de la pitaya constituyen una excelente opción para sustituir a los extraídos de la remolacha (Butera *et al.*, 2002; Moßhammer *et al.*, 2005; Moreno *et al.*, 2008).

Las principales betalaínas presentes en los frutos de *Hylocereus spp.* son: la betanina, filocactina, hilocerenina y sus respectivos isómeros (Stintzing *et al.*, 2002a). Además Esquivel *et al.*, (2007b) encontró la presencia de la neobetanina en trazas.

3.4 Métodos de secado

Las betalaínas de acuerdo con diferentes autores presentan baja estabilidad a altas temperaturas, exposición al oxígeno, a la luz y al Aw. Los métodos usuales de deshidratación tienden a utilizar altas temperaturas y condiciones adversas para estos pigmentos. El secado de los colorantes extraídos de las plantas les brinda una mayor estabilidad microbiológica debido al bajo Aw del polvo resultante. Con la deshidratación aumenta considerablemente la vida útil de los ingredientes colorantes y resulta en productos más fáciles de manejar y utilizar. Lo anterior representa una ventaja económica en cuanto al transporte de este tipo de productos (Cai & Corke, 2000; Moßhammer *et al.*, 2006; Roustapour *et al.*, 2006). Debido a esto se evaluará el secado por atomización y la liofilización.

3.4.1 Secado por atomización

Este método permite en una única operación pasar de un líquido a un producto seco, ya que el fluido es atomizado utilizando una boquilla o discos giratorios de rociado de alta velocidad, en el interior de una cámara cilíndrica que lo transforma en un aerosol, que entra inmediatamente en contacto con un fluido caliente y secante, que por lo general es aire, lo que resulta en una evaporación muy rápida. Por este motivo, durante el proceso los componentes se mantienen relativamente a bajas temperaturas, lo cual es imposible con la utilización de otros métodos de secado (Geankoplis, 1998; Roustapour *et al.*, 2006).

Los sólidos secos salen por el fondo de la cámara a través de un transportador de tornillo, y los gases de escape fluyen hacia un separador de ciclón para filtrar las partículas muy finas. Las partículas que se obtienen son muy ligeras y bastante porosas, por lo que es necesario en la mayoría de los casos utilizar un material de recubrimiento (Geankoplis, 1998; Roustapour *et al.*, 2006).

Algunas de las ventajas de este método de secado es que el pigmento se somete a altas temperaturas durante muy corto tiempo, lo que rápidamente produce un polvo seco, al mismo tiempo se tiene un mejor control sobre el tamaño de partícula deseado. Diversos autores califican este método como la mejor manera de secar un pigmento vegetal sensible, debido a que se utiliza, por lo general, tiempos de contacto relativamente cortos (5-100 s.) y temperaturas relativamente bajas en comparación con otros métodos de secado, por lo que propiedades importantes como color, sabor y nutrientes no termoestables se retienen en porcentajes muy altos, además si se compara con otros métodos de secado como la liofilización es considerablemente más barato (Cai & Corke, 2000; Rodríguez-Hernández *et al.*, 2005).

Sin embargo, el secado por atomización en jugos de frutas presenta una limitación, y es el hecho de que generalmente estos jugos contienen una gran cantidad de azúcares, lo que hace que el fluido tienda a presentar características termoplásticas y se aglomere. Durante el secado se forman líquidos muy viscosos y altamente higroscópicos, que se tienden a adherir en la cámara de secado debido a interacciones

entre las partículas, o entre las partículas y la pared del sistema colector (Obón *et al.*, 2008; Roustapour *et al.*, 2006).

Por esta razón se utilizan diversos aditivos como almidón, gomas, dióxido de silicio y maltodextrinas con el fin de recubrir o microencapsular las partículas para facilitar el secado, manejo y posterior almacenamiento de los polvos obtenidos (Moßhammer *et al.*, 2006).

Además, esta técnica de recubrimiento no implica una alteración en la calidad ni en la solubilidad del polvo obtenido y esta práctica es ampliamente utilizada para recubrir colorantes, sabores y vitaminas entre otros. De todas las sustancias de recubrimiento la maltodextrina con diferentes grados de polimerización es la más utilizada, ya que su costo es menor y presenta buenas propiedades de protección al líquido a encapsular (Cai & Corke, 2000; Chegini & Ghobadian, 2005; Roustapour *et al.*, 2006; Loksuwan, 2007; Obón *et al.*, 2008).

La maltodextrina es soluble en agua, tiene baja viscosidad y se encuentra disponible comercialmente en una amplia gama de pesos moleculares, que proporcionan diferentes densidades de pared alrededor de los elementos a encapsular. Este polisacárido consiste en unidades de β -D-glucosa con enlaces glucosídicos (1-4), y son clasificados de acuerdo con su equivalente de dextrosa (DE). El equivalente de dextrosa (DE) de una maltodextrina es inversamente proporcional a su peso molecular, y a su vez determina su capacidad como compuesto reductor. Las maltodextrinas con un DE menor a 20, son consideradas GRAS (Generally recognized as safe, por sus siglas en inglés), por la FDA (Food and Drug Administration, por sus siglas en inglés), mientras que los polímeros con un equivalente de dextrosa mayor a 20 son considerados como jarabes de glucosa (García *et al.*, 2004; Ersus & Yurdagel, 2007; Gabas *et al.*, 2007; Lozano, 2009).

3.4.2 Secado por liofilización

El proceso de liofilización es presentado por algunos autores como una alternativa para la conservación de pigmentos termolábiles y fotosensibles durante el proceso de secado, debido a que se lleva a cabo a temperaturas y presiones bajas, logrando con

esto una disminución en la actividad de agua, por lo que los pigmentos sensibles logran aumentar su vida útil (Villoria *et al.*, 2002; Geankoplis, 1998).

Los alimentos liofilizados presentan muchas ventajas en comparación a aquellos obtenidos por otros medios de deshidratación. Estos tienen una alta calidad, ya que prácticamente conservan todas sus características. Se puede alcanzar una larga vida útil, si se conservan en condiciones adecuadas como por ejemplo en un empaque al vacío e impermeable al oxígeno, y además, logran cumplir con altos estándares microbiológicos (Nielsen & Rolfgard, 1996; Geankoplis, 1998; Cai & Corke, 2000).

Por otro lado este método tiene la ventaja de que conserva mejor el sabor y aroma que cualquier otro método de eliminación de agua, debido a las temperaturas bajas que se emplean. Igualmente reduce al mínimo las reacciones de degradación que casi siempre ocurren en los procesos comunes de secado. Sin embargo, el secado por liofilización, es una forma de deshidratación de alimentos bastante costosa, debido a la velocidad lenta de secado y a la necesidad de usar vacío, por lo que recientemente los estudios realizados en cuanto a estabilidad de pigmentos vegetales se concentran en métodos de secado como la atomización (Cai & Corke, 2000).

La mayor parte de los métodos de liofilizado se efectúan a temperaturas de $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ o inferiores, con presiones de aproximadamente 610 Pa o menos. En la liofilización el material original está construido por un núcleo central de material congelado. A medida que el hielo se sublima, el plano de sublimación, que se inicia en la superficie exterior, penetra al interior dejando atrás una corteza porosa de material ya seco. El vapor de agua que se forma se transfiere a través de la capa de material seco. Por consiguiente, las transferencias de calor y de masa se llevan a cabo simultáneamente (Geankoplis, 1998).

3.4.3 Cambios de color durante el secado o durante tratamientos térmicos

También existen una serie de reacciones responsables de los colores y aromas característicos en ciertos alimentos, como por ejemplo la reacción de Maillard, responsable en gran medida del color de diversos alimentos y se conoce también como pardeamiento no enzimático, ésta ocurre principalmente entre los grupos aldehído de

los azúcares reductores y los grupos amino de las proteínas (Potter & Hotchkiss, 1999).

Los azúcares reductores de mayor importancia para el desarrollo de esta reacción son, la glucosa, fructosa, maltosa, lactosa y en menor medida, las pentosas. Las aminos primarias son los componentes amínicos de mayor importancia, ya que su concentración en los alimentos suele ser mayor (Belitz & Grosch, 1997).

La reacción de Maillard es en sí, un grupo de reacciones complejas que conducen, cada una a la formación de diferentes compuestos, entre ellos pigmentos pardos (melanoidinas), compuestos volátiles con aromas diversos, sustancias de sabor (especialmente compuestos amargos), compuestos con carácter fuertemente reductor que contribuyen a la estabilidad de los alimentos frente a la alteración oxidativa, compuestos con propiedades mutagénicas y compuestos que ocasionan las uniones cruzadas entre proteínas (Badui, 1993; Belitz & Grosch, 1997).

Debido a que la energía de activación de esta reacción es relativamente alta, es necesaria la aplicación de calor para que pueda llevarse a cabo (70°C-110°C). Además, la velocidad de reacción se ve favorecida con aumentos en el A_w , siendo su máxima velocidad cuando se alcanzan valores de 0,6-0,7. A valores superiores de este parámetro la velocidad de reacción disminuye, por lo que el control de la actividad del agua (A_w), junto con el control de la concentración de reactivos y de la temperatura es una forma de limitar dicha reacción (Whistler & Bemiller, 1997).

El desarrollo de los compuestos propios de la reacción de Maillard, en matrices con altos contenidos de azúcares reductores y compuestos amínicos, se determina mediante el Índice de Absorbancia propuesto por Billaud *et al.* (2004), por medio de la cuantificación de la absorbancia a longitudes de onda comprendidas entre los 340 nm. y 460 nm.

De acuerdo con el estudio realizado por Moßhammer *et al.* (2006), cuando los pigmentos vegetales son sometidos a tratamientos con altas temperaturas, el color y la estabilidad se ve seriamente comprometidos ya que ocurren reacciones de pardeamiento no enzimático (Maillard), reacciones de degradación de la glucosa,

como por ejemplo la producción de 5-hidroxi-metilfurfural, además el contenido de ácido ascórbico se ve seriamente reducido. Moreno *et al.* (2008) encontraron que una concentración entre 0,10% a 1% de ácido ascórbico tiene un efecto conservador de las betacianinas durante tratamientos térmicos en matrices como jaleas y bebidas lácteas. Debido a lo anterior es importante lograr la estabilidad del ácido ascórbico en productos de baja acidez (Cai & Corke, 1999; Kirsten *et al.*, 2006).

3.5 El Yogurt, características, aplicaciones y mercado.

Debido a la alta estabilidad reportada de los compuestos betalaínicos en productos lácteos, resulta interesante su aplicación en este tipo de productos, como en bebidas lácteas, yogurt, y otros similares (Santos *et al.*, 2005).

Diversos autores han estudiado la aplicación de pigmentos vegetales extraídos de plantas pertenecientes a la familia de las cactáceas como por ejemplo la *Opuntia ficus-indica* en diversas matrices alimentarias, tales como el yogurt, refrescos, caramelos, etc (Moßhammer *et al.*, 2005; Santos *et al.*, 2005; Le Bellec *et al.*, 2006; Obón *et al.*, 2008).

El yogurt es un derivado lácteo y la norma costarricense para yogurt simple y azucarado lo define como “el producto de la leche coagulada, obtenido por fermentación láctica mediante la acción de *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* a partir de la leche y productos lácteos y con o sin adiciones facultativas” (MEIC, 1989).

El yogurt es uno de los productos que ha experimentado un crecimiento importante en su consumo durante los últimos años, ya que el mercado de productos derivados de la leche, especialmente en Estados Unidos y en países europeos como España, ha presentado una tendencia creciente. Por ejemplo, el consumo de éste producto en Estados Unidos se duplicó del año 2003 al 2005, en donde se tuvo un incremento del 8% anual, lo que se traduce a 2,7 billones de libras de yogurt consumidas anualmente. En España se presenta un importante crecimiento en el consumo de yogurt de 11,5%, con un promedio anual de consumo per cápita al año de 39 Kg (National Yogurt Association, 2005; Fernández *et al.*, 2006).

Debido al constante crecimiento de su demanda a nivel mundial, y a la demanda cada vez mayor de productos naturales, se estudiaron dos métodos para producir polvos colorantes a partir de pitaya roja, para su aplicación en yogurt como ingrediente colorante natural (Moßhammer *et al.*, 2005; Santos *et al.*, 2005; Le Bellec *et al.*, 2006; Obón *et al.*, 2008).

3.6 Análisis Sensorial en los Alimentos

La evaluación sensorial se puede definir como un método científico utilizado para evocar, medir, analizar e interpretar aquellas respuestas generadas al ver, oler, tocar, saborear y escuchar un determinado alimento; este campo de la ciencia ha sido muy importante para generar información indispensable en el desarrollo de nuevos alimentos (Lawless & Heymann, 1999).

La utilización del ser humano como instrumento de evaluación es uno de los avances más significativos del siglo anterior; sin embargo, es necesario evaluar y corregir los errores que puedan estar dados por los efectos naturalmente asociados con este tipo de instrumento, con el fin de desarrollar no sólo métodos más útiles sino también más precisos (Calderón, 2008).

Para ello existe a nivel de evaluación sensorial una amplia gama de pruebas que se utilizan en función de los resultados que se desea obtener; dentro de estas pueden mencionarse, por ejemplo, las pruebas de diferencia y las de agrado o aceptación.

Dentro de las pruebas sensoriales, se contempla el uso de pruebas de diferenciación o pruebas de discriminación, las cuales constituyen una forma sencilla de establecer un criterio por medio de la utilización de diferentes métodos, dentro de éstas se incluyen, la comparación pareada, el triángulo, el método 3-AFC y el Dúo-Trío. Este tipo de pruebas están destinadas a la detección y a la cuantificación de pequeñas diferencias sensoriales entre alimentos o productos que guardan una estrecha similitud (Lawless & Heymann, 1999).

La dificultad relacionada con la medición de diferencias tan pequeñas, no sólo provoca confusión, sino que también está afectada por los prejuicios o diferentes criterios que privan en cada uno de los jueces. Los sesgos o prejuicios en las respuestas llegan a ser

independientes de la sensibilidad del juez para estar correlacionados con la confianza que se tenga para la emisión de un criterio (O'Mahony & Angulo, 2009).

Por lo tanto, en este tipo de pruebas, las instrucciones claras juegan un papel fundamental con el fin de darle al juez que los estímulos se ubican en diferentes lados del criterio previamente establecido (O'Mahony & Angulo, 2009).

El método de triángulo, consiste en la presentación de tres estímulos al juez, donde en el set dos de las muestras son iguales y una es ligeramente diferente. La labor del juez consiste en identificar la muestra que presenta esta diferencia. El juez tiene una posibilidad del 50% de escoger correctamente debido al azar (O'Mahony & Angulo, 2009).

Por otro lado en la comparación pareada o prueba 2-AFC (2-escogencia forzada alternativa) al panelista se le presentan dos muestras simultáneamente y debe escoger el objeto con la mayor (o menor) intensidad de un atributo entre dos muestras, como por ejemplo: color, sabor, dulzor etc. En esta prueba es de vital importancia indicar la naturaleza de la diferencia entre las muestras evaluadas (Ennis, 1993; Lawless & Heymann, 1999).

De acuerdo con el conocimiento previo de la dirección de la diferencia, la comparación pareada puede comportarse como una prueba de una o de dos colas; la prueba es de una cola cuando esta dirección se conoce y de dos colas cuando se desconoce. Debido a que en la prueba de comparación pareada se utiliza un procedimiento de selección forzada, los resultados obtenidos por este método son libres de sesgo si se sigue el procedimiento adecuado (Calderón, 2008).

El método del Triángulo presenta como ventaja que no es necesario especificar cuál es el aspecto evaluado, y esto contempla que los productos o alimentos generalmente varían en más de un atributo (O'Mahony & Angulo, 2009).

Este tipo de pruebas pueden ser utilizadas con un mayor número de estímulos, sin embargo, esto requeriría un mayor esfuerzo por parte del juez, en cuanto a la memoria necesaria para realizar la comparación y emitir una respuesta (O'Mahony & Angulo, 2009).

IV. Materiales y Métodos

4.1 Localización del trabajo

El estudio se realizó en la planta piloto del Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Centro para Investigaciones en Granos y Semillas y en los laboratorios de Química y Análisis Sensorial de la Escuela de Tecnología de Alimentos de la Universidad de Costa Rica, como parte del proyecto “Desarrollo de productos procesados a partir de pitaya para su aplicación en formulaciones alimenticias y cosméticas” (VI-735-A8-527).

4.2 Materia Prima

Como materia prima se utilizó frutas de *Hylocereus sp.* (Pitaya roja) cosechados en el mes de Julio, con estadio de madurez completa, provenientes de Ticuantepe, Nicaragua, se almacenaron en condiciones de refrigeración hasta su procesamiento, durante un período máximo de 5 días.

4.3 Elaboración de ingredientes colorantes

En la Figura 6, se presenta el esquema metodológico desarrollado, en el que se incluye desde las etapas previas a la producción del jugo macerado de pitaya, hasta la producción de polvos colorantes.

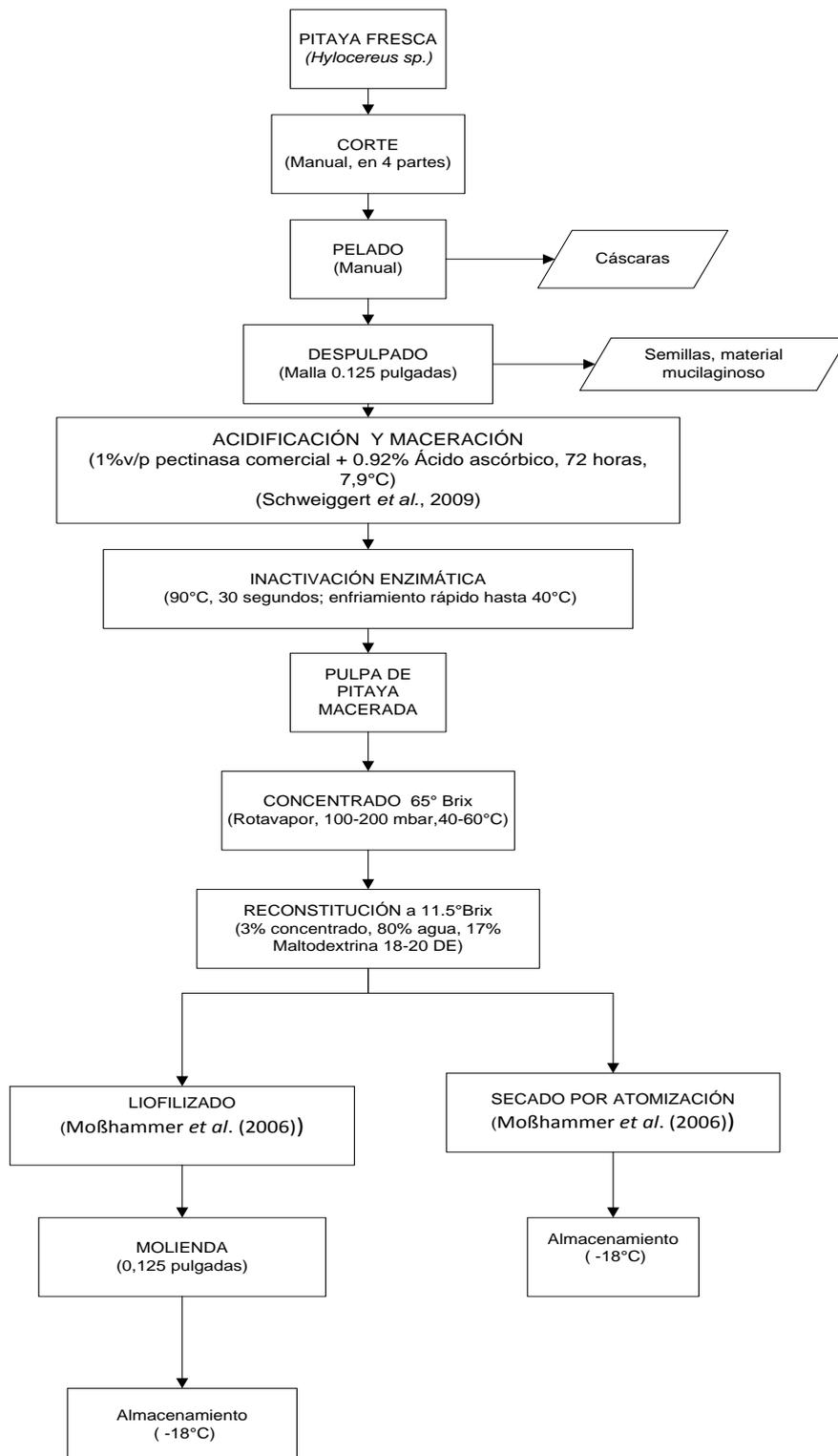


Figura 6. Metodología desarrollada para la producción de polvos colorantes a partir de pitaya roja (*Hylocereus sp.*)

4.3.1 Extracción de la pulpa

Las frutas se cortaron en cuatro, y se realizó un pelado manual, posteriormente se procedió a despulpar (despulpador Sterling Power Systems Inc., Hamilton, Canadá) utilizando una malla de 0,125 pulgadas, y la pulpa obtenida se almacenó en congelación a -18°C, hasta su utilización.

4.3.2 Maceración

Se tomó pulpa de pitaya congelada sin pasteurizar y se sometió a un proceso de macerado mediante la aplicación de un tratamiento enzimático optimizado por Schweiggert *et al.* (2009), adicionando a la pulpa 1% (v/p) de pectinasa comercial, 0,92% de ácido ascórbico y manteniendo en continua agitación durante 3 días a una temperatura de 7,9 °C. Al finalizar el tratamiento enzimático se filtró el producto obtenido para separar las semillas de la fruta, el jugo obtenido se calentó a 90 °C en una marmita para inactivar la enzima y se enfrió a 40-50 °C, en un baño de hielo, de esta forma se obtuvo la pulpa macerada.

4.3.3 Concentrado

Para la elaboración del concentrado de pitaya se utilizó una adaptación al procedimiento descrito por Schweiggert *et al.* (2009), en donde se utilizó el jugo obtenido de la maceración para elaborar el concentrado haciéndolo pasar sólo una vez por un evaporador a escala de laboratorio a 40-60 °C y 100-200 mbar, hasta obtener un concentrado final de 65% de sólidos totales.

4.3.4 Secado de la pulpa de pitaya

4.3.4.1 Pruebas Preliminares

Como pruebas preliminares se realizaron ensayos con el fin de trabajar con la mínima cantidad de maltodextrina posible. Moßhammer *et al.* (2006) reportan una utilización de 17% de maltodextrina (18-20 DE) en una disolución de jugo microfiltrado de *Opuntia ficus-indica*, en su estudio para la producción de polvos a partir de este fruto. Se tomaron 3 disoluciones de 16%, 17% y 20% de maltodextrina, y se llevó cada una

hasta una concentración final de 11-11,5 °Brix, añadiendo jugo de pitaya roja concentrado a 65° Brix , las mismas se hicieron pasar por el secador por atomización y se seleccionó la disolución al 17% de maltodextrina, ya que se tuvo un color de polvo idóneo y el proceso de atomización transcurrió debidamente, por lo que se procedió a utilizar esta concentración para elaborar el polvo con el que se realizó el estudio.

4.3.4.2 Secado por liofilización

Siguiendo el método y condiciones de secado descritas por Moßhammer *et al.* (2006), se tomaron 500 gramos de una mezcla de 11-11,5 °Brix, compuesta por 17% de maltodextrina (18-20 DE), 80% agua, y 3% de concentrado de 65°Brix, se secó a escala de laboratorio en el equipo liofilizador ubicado en el Centro de Investigaciones en granos y semillas (CIGRAS), a una temperatura final máxima de 25°C (hasta alcanzar condiciones de peso constante, 72 h, aproximadamente) y una humedad final de 6,32%, el polvo resultante se almacenó a -18°C en bolsas de polietileno de alta densidad, hasta su utilización.

4.3.4.3 Secado por atomización

Se secaron por atomización 500 gramos de una mezcla de 11-11,5 °Brix, compuesta por 17% de maltodextrina (18-20 DE), 80% agua, y 3% de concentrado de 65°Brix, para lo anterior se utilizó el método y condiciones de secado descritas por Moßhammer *et al.* (2006), utilizando el equipo de secado por atomización (Büchi 190 Mini spray dryer, Büchi Labortechnik, Flawil, Switzerland) con temperaturas de aire de 165°C y 90°C de entrada y salida respectivamente, hasta obtener un polvo con una humedad final de 6,70%, los polvos resultantes se almacenaron a -18°C en un frasco de vidrio protegido de la luz externa.

4.4 Diseño experimental para la caracterización fisicoquímica de los polvos liofilizados y secados por atomización

Se realizó un arreglo irrestricto aleatorio con dos niveles (tipo de secado), con un lote de cada tipo de polvo, utilizando como variables respuesta el color, concentración de

betalaínas, perfil de betalaínas, contenido de ácido ascórbico, producción de 5-hidroximetilfurfural, reacción de pardeamiento no enzimático (Maillard) y humedad.

4.4.1 Análisis estadístico.

Para el análisis de datos en la comparación de las propiedades físico-químicas se realizó una prueba t-Student.

4.5 Aplicación de los pigmentos en yogurt

Se realizaron pruebas preliminares con yogurt natural con el fin de determinar la concentración adecuada de los polvos colorantes obtenidos, para obtener un yogurt comparable en cuanto a color, con los yogures de fresa que se encuentran en el mercado nacional. Lo anterior se evaluó sensorialmente por medio de un panel informal de 7 personas y se obtuvo como resultado de esta prueba una tonalidad que no se asemeja al yogurt comercial, ya que el polvo de pitaya imparte tonalidades púrpuras – rojizas, y el comercial tiene tonalidades rojas.

Debido a lo anterior se coloreó yogurt natural con polvo de pitaya, para determinar en un segundo panel informal la tonalidad que según los jueces era más parecida a la tonalidad del yogurt de fresa. Para ello se realizó una serie de productos coloreados con concentraciones desde 0,19% hasta 0,38%, y se tomó la concentración de 0,28% de polvo de pitaya como la concentración de polvo de pitaya que imparte al producto la tonalidad más cercana a la del yogurt comercial tomado para realizar dicha comparación.

Esta concentración optimizada por el método anteriormente descrito se tomó como punto de partida para la realización del estudio de la estabilidad del color durante el almacenamiento.

4.5.1 Pruebas preliminares para determinar la diferencia mínima detectable por el ojo humano en cuanto a degradación de color.

Se determinó la diferencia mínima detectable en cuanto a degradación de color, con el fin de establecer si las diferencias que detecta el colorímetro podrían ser percibidas por el ojo humano.

Se realizó un panel sensorial, con 18 personas, en donde se estudió seis concentraciones diferentes (0,19%, 0,22%, 0,25%, 0,30%, y 0,33%) contra el estándar definido en el apartado 3.4 (0,28%), y la diferencia se buscó utilizando una prueba 2-AFC, debido a que se considera una prueba muy eficaz en la determinación de diferencias muy pequeñas. La pregunta que se les realizó fue ¿Cuál yogurt es más rosado?. Se utilizó las tablas binomiales de Roessler *et al.*, (1978), para determinar si existen diferencias significativas entre las muestras de cada par.

Las dos diferentes concentraciones a utilizar para colorear el yogurt natural (tanto la estándar (0,28%), como la que se encontró como diferente en el punto anterior (resultado de la prueba 2-AFC)), se midieron en cuanto a parámetros de color, con el colorímetro Colourflex para conocer en unidades CIE Lab la mínima diferencia percibida por el ojo humano (Hunterlab, 2001).

El valor de ΔE^* encontrado en el punto, se tomó como referencia para finalizar el estudio de almacenamiento del yogurt coloreado con ambos tipos de polvo de pitaya.

4.5.2 Estabilidad del colorante durante el almacenamiento

Para el estudio de almacenamiento se evaluó la estabilidad del color del yogurt empleando los dos polvos de pitaya obtenidos por liofilización y secado por atomización. El yogurt utilizado se empacó en cremeras termoformadas de polietileno, y se coloreó con la concentración de polvos establecida de 0,28%. El período máximo de almacenamiento fue de dieciséis días naturales, en tres lotes de yogurt. Los tres lotes de yogurt se almacenaron a una temperatura de entre 4 y 5°C, y se evaluó la variable color, en el equipo Colourflex (Hunterlab, 2001). Las mediciones se realizaron el día cero y luego cada dos días, finalizando el estudio el día dieciséis, el pH inicial del yogurt coloreado medido el día 0, presentaba valores entre 4,1 y 4,2.

4.5.3 Diseño experimental para el estudio de almacenamiento

Se utilizó un diseño irrestricto aleatorio que corresponde al tipo de polvo a dos niveles: liofilizado y secado por atomización, y se realizaron dos repeticiones por cada lote de cada nivel estudiado. Las variables respuesta para el análisis instrumental del color fueron: L^* , a^* y b^* .

El estudio de almacenamiento finalizó el día 16 debido a que se detectó un olor característico de reacciones de rancidez en las muestras, y además el pH presentaba valores entre 3,0 y 3,2, lo que indica que el producto llegó al final de su vida útil, en las condiciones en que estuvo almacenado (Wittig *et al.*,2005).

4.5.3.1 Análisis estadístico

Con la finalidad de evaluar el comportamiento de la estabilidad del color instrumental, para cada tratamiento a través de los dieciséis días de duración del estudio, se realizó un análisis de regresión lineal utilizando el programa de estadística JMP Versión 4.0 (SAS Institute).

4.6 Comparación sensorial de la aplicación de los polvos de pitaya obtenidos, con colorante comercial de remolacha roja en yogurt natural

Para comparar sensorialmente las variables color y sabor, se preparó las muestras de la siguiente forma:

4.6.1 Variable Color

Se tomó un lote de yogurt natural comercial, el cual se dividió en tres partes y cada una de ellas se coloreó con polvo liofilizado, polvo seco por atomización y con concentrado de remolacha comercial.

4.6.2 Variable Sabor

Se tomó un lote de yogurt natural, sin sabor y sin color, se le añadió un sabor artificial de fresa (0,015%), 20 g/kg de sacarosa como endulzante y se dividió en dos partes, una de ellas se coloreó con polvo seco por atomización y la otra con polvo de remolacha comercial, respectivamente, se tomó para este análisis la concentración (0,28%) mejor evaluada por los panelistas en el punto 3.4.

En cuanto al yogurt coloreado con polvo de remolacha, debido a que la coloración del concentrado utilizado presentaba un tono predominantemente rojizo, se tuvo que utilizar colorante artificial azul en una concentración de 0,0012% (m/v), con el fin de enmascarar esa tonalidad e impartirle un tono similar al del yogurt coloreado con polvo seco por atomización.

La concentración de color azul en el yogurt coloreado con concentrado de remolacha se determinó utilizando un panel informal de 15 personas, en donde se llegó por consenso a la decisión de que esa concentración impartía al yogurt una tonalidad tan similar a la del yogurt coloreado con polvo de pitaya, que los hacía perfectamente confundibles; lo anterior se realizó con el fin de que el color de las muestras no afectara de una u otra forma la percepción del sabor de las muestras.

4.6.3 Análisis sensorial del color y el sabor durante el tiempo de almacenamiento del yogurt coloreado con polvo de pitaya.

4.6.3.1 Variable Color:

Se realizó una prueba 2AFC con 10 personas. Se preguntó cuál era el más rosado, con el fin de determinar si los panelistas encuentran alguna diferencia en el color entre los dos polvos liofilizado y atomizado.

Además se realizó dos pruebas de preferencia de la apariencia, con 60 personas, se preguntó cuál muestra prefiere, o en su defecto si prefiere las dos muestras por igual, sin que probaran las muestras, solamente las observaron. Una prueba de preferencia se hizo entre yogurt de fresa comercial y yogurt coloreado con polvo de pitaya, y la otra prueba con yogurt coloreado con concentrado de remolacha y yogurt coloreado con polvo de pitaya.

4.6.3.2 Variable Sabor:

Se realizó una prueba de triángulo con 124 personas, consumidoras habituales de yogurt, ya que aunque la prueba 2AFC tiene un mayor grado de discriminación, la pregunta que se haría a los jueces utilizando esta metodología haría referencia a un sabor “terroso” o “a tierra”, lo que sería contraproducente al utilizar jueces no entrenados. Con el fin de tener órdenes de presentación balanceados se tomaron dos muestras de yogurt con pitaya y una de yogurt con remolacha y un segundo orden de presentación con dos muestras de yogurt con remolacha y una de yogurt con pitaya.

4.6.4 Análisis Estadístico

Tanto para la prueba 2 AFC, como para la prueba del triángulo, se registraron las respuestas correctas y, haciendo uso de la tabla Rossler *et al.* (1978), se determinó el valor p para el número de participantes y el número de personas que acertaron las respectivas pruebas, con el fin de determinar si existía diferencia significativa entre las muestras.

4.7 Métodos de análisis

4.7.1 Determinación de humedad

Se utilizó el método de la AOAC 925.09, (1999), cada muestra se analizó por duplicado.

4.7.2 Determinación de color del material deshidratado y del yogurt coloreado.

El color de los productos desarrollados se determinó mediante muestras de 3 gramos de cada uno de los polvos estudiados, en un colorímetro Colourflex (Hunterlab, VA, USA), utilizando un iluminante D₆₅ y un ángulo de observación de 10°, se calibró con un patrón blanco y uno negro, según especificaciones del software, y la verificación se llevó a cabo por medio de un patrón verde. El color se expresará como luminosidad (L*), enrojecimiento (a*), verdor (b*), croma (C* = (a*² + b*²)^{1/2}) y ángulo de matiz (h° = arctan b*/a*) (Stintzing *et al.*, 2003), cada color se especifica numéricamente en la escala CIELAB, para la correlación psicométrica de éstos atributos de la percepción del color con respecto al sistema visual humano, y las diferencias de color se determinaron como sigue:

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} \quad (\text{Gonnet, 2003; Esquivel } et al., 2007c)$$

4.7.3 Determinación del contenido total de betalaínas en el polvo deshidratado

La cuantificación del contenido total de betalaínas y el espectro de absorción se realizó por duplicado mediante una determinación espectrofotométrica utilizando un espectrofotómetro UV/VIS a 538nm (Shimadzu, UV1203). Se realizó previamente un filtrado para separar las partículas que pudieran interferir con el análisis siguiendo el método descrito por Kugler *et al.* (2007) y Esquivel *et al.* (2007c).

4.7.4 Determinación del perfil de betalaínas en HPLC-UV

Los patrones betalaínas de cada tipo de polvo deshidratado se determinaron utilizando el sistema de HPLC (Merck, LaChrom) equipado con una columna analítica Sunfire C18 (250 * 4,6 mm i.d) con un tamaño de partícula de 5µm. La separación se realizó a 30°C utilizando un flujo de 1mL/min. La fase móvil A consistió en un 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 y se calcularon 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.

4.7.5 Determinación de 5-hidroxi-metilfurfural y pardeamiento no enzimático.

La determinación de 5-hidroxi-metilfurfural se realizó utilizando el sistema de HPLC (Merck, LaChrom) equipado con una columna analítica Sunfire C18 (250 * 4,6 mm i.d) con un tamaño de partícula de 5µm, siguiendo el método descrito por Moßhammer *et al.* (2006), y la determinación del pardeamiento no enzimático se llevó a cabo mediante el método descrito por Billaud *et al.* (2004), en donde se calcula el índice de absorbancia a diferentes longitudes de onda, a las cuales presentan su máxima absorción los diferentes compuestos propios de la reacción de Maillard.

4.7.6 Determinación de ácido ascórbico.

La determinación de ácido ascórbico se llevó a cabo de acuerdo con el método colorimétrico Cat. 10 409 677 035, de Boehringer Mannheim / R- Biopharm, descrito por Henniger (1997).

V. Resultados

5.1 Comparación del efecto de la liofilización y secado por atomización sobre humedad, color, concentración, perfil, y distribución de los diferentes tipos de betalainas, de dos polvos elaborados a partir de concentrado de pitaya.

5.1.1 Comparación de la concentración de betalainas, humedad y color, de los polvos obtenidos a partir de concentrado de pitaya, por los métodos de deshidratación por liofilización y secado por atomización.

Para evaluar los cambios cromáticos que producen tanto la liofilización como el secado por atomización sobre el color de los polvos de pitaya, se midieron los parámetros de color: L*, a*, b*, C*, h° que se muestran en el Cuadro 1. En todos los casos se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$). En cuanto a la concentración de betalainas (resultado expresado en base seca), el producto secado por liofilización mostró una concentración significativamente mayor ($p < 0,0001$) a la concentración del polvo secado por atomización, y con respecto a la humedad, el polvo secado por atomización obtuvo un porcentaje de humedad significativamente mayor ($p < 0,044$) al polvo liofilizado

Cuadro 1. Comparación de los parámetros de color L*, a*, b*, tono (h°) y saturación (croma), además de concentración de betalainas (mg/kg) y humedad entre los polvos obtenidos mediante liofilización y secado por atomización¹.

Tipo de secado	L*	a*	b*	C*	h°	³ Concentración de betalainas (mg/kg)	Humedad %
Secado por liofilización	43,14 (±0,02)	35,12 (±0,01)	-25,53 (±0,03)	43,42 (±0,01)	323,97 (±0,04)	1418,13 (±0,200)	6,32 (±0,182)
Secado por atomización	55,95 (±0,04)	33,19 (±0,02)	-25,78 (±0,06)	42,04 (±0,05)	322,22 (±0,06)	1195,10 (±0,951)	6,70 (±0,135)
Prob> t ²	<0,0001	<0,0001	0,0015	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,044

¹Análisis por triplicado (± desviación estándar)

²Resultado de la prueba de t-Student para la comparación de medias

³Resultado expresado en base seca

5.1.2 Comparación de los perfiles de la betacianinas presentes en los polvos obtenidos mediante liofilización y secado por atomización.

Por medio de un análisis por HPLC, se determinó el perfil de separación de betacianinas para el polvo liofilizado que se muestra en la Figura 7. Se incluye únicamente un perfil de separación, ya que ambos perfiles (polvo secado por atomización y polvo liofilizado) son idénticos.

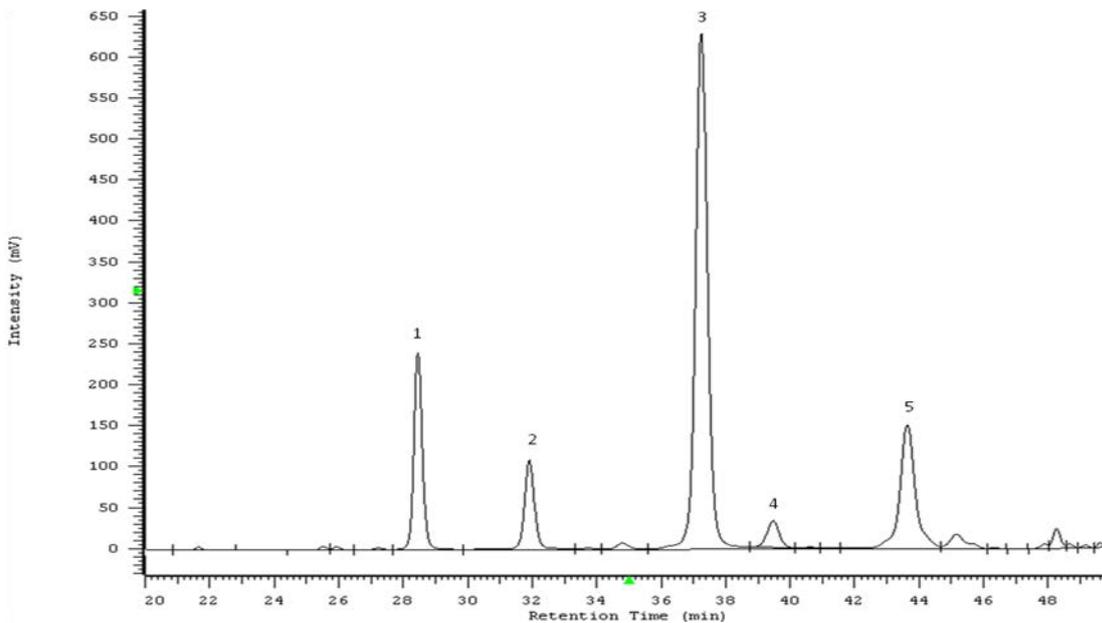


Figura 7. Perfil de separación de betacianinas mediante HPLC para un polvo deshidratado mediante liofilización.

Para la identificación de betacianinas en este perfil (Figura 7), se tomó como referencia el tiempo de retención reportado por Schweiggert *et al.* (2009). Con los datos del análisis por HPLC (Cuadro 2) se pueden identificar las diferentes betacianinas tanto acetiladas como no acetiladas, presentes en los dos tipos de polvo de pitaya estudiados.

Cuadro 2. Identificación de las diferentes betacianinas presentes en ambos tipos de polvo estudiados, según Rt (tiempo de retención) de acuerdo al perfil descrito para concentrado de pitaya roja por Schweiggert *et al.* (2009), tras la respectiva maceración enzimática.

No.	Nombre común	Compuesto	Rt
1	Betanina	Betanidina-5-O-glucósido	27,5
2	Isobetanina	Betanidina-5-O-glucósido	31,2
3	Betanidina	Betanidina	35,5
4	Filocactina	6'-O-malonilbetanina	39,47
5	Isobetanidina	Isobetanidina	42,5

A partir de las áreas específicas para cada betacianina, encontradas en el cromatograma, se obtuvo el porcentaje en la muestra de cada betacianina identificada, según se observa en el Cuadro 3, el porcentaje de betanina, isobetanina, betanidina, filocactina e isobetanidina, no presentó diferencias significativas entre sí, cuando se compararon entre cada tipo de polvo, esta caracterización se hizo de acuerdo con Schweiggert *et al.* (2009), en donde por medio de espectrofotometría de masas identificaron cada una de ellas.

Cuadro 3. Comparación de los porcentajes de cada tipo de betacianina entre los polvos obtenidos mediante liofilización y secado por atomización¹.

Tipo de secado	Betanina %	Isobetanina %	Betanidina %	Filocactina %	Isobetanidina %
Secado por liofilización	14,03 (±0,05)	7,5 (±0,4)	57,8 (±0,5)	3,04 (±0,07)	17,6 (±0,2)
Secado por atomización	14,03 (±0,05)	8,1 (±0,4)	57,1 (±0,5)	2,93 (±0,07)	17,9 (±0,2)
Prob> t ²	0,953	0,432	0,3768	0,3694	0,2948

¹Análisis por duplicado (± error estándar)

² Resultado de la prueba de t-Student para la comparación de medias

5.2 Evaluación del efecto del secado por atomización y de la liofilización sobre el contenido de ácido ascórbico, 5-hidroximetil-furfural y oscurecimiento no enzimático.

5.2.1 Comparación del efecto del secado por atomización y de la liofilización, en ambos tipos de polvo estudiados, sobre la cantidad de ácido ascórbico y 5-hidroximetil-furfural

Se midió el efecto sobre la concentración de ácido ascórbico (mg/kg) en el polvo obtenido a partir de concentrado de pitaya, tanto por liofilización como por el método de secado atómico y como se aprecia en el Cuadro 4, se obtuvo que el polvo secado por liofilización presentó un porcentaje de ácido ascórbico que fue significativamente mayor al del polvo secado por atomización. En cuanto a la presencia de 5-hidroximetil-furfural, en ambas muestras estudiadas, no fue posible detectar una cantidad suficientemente apreciable con el método de análisis utilizado.

Cuadro 4. Comparación del contenido de ácido ascórbico y 5-hidroximetil-furfural (HMF) ¹.

Tipo de secado	Ácido ascórbico (mg/kg)	5-HMF
Secado por atomización	12,761 (±0,338)	ND
Secado por liofilización	15,772 (±0,617)	ND
Prob> t ²	0,0131	ND

¹Análisis por duplicado (± error estándar)

² Resultado de la prueba de t-Student para la comparación de medias

ND: No se detectó presencia de 5-HMF en las muestras analizadas

5.3 Comparación del efecto del secado por atomización y de la liofilización, en ambos tipos de polvo estudiados, sobre el oscurecimiento no enzimático

El oscurecimiento no enzimático de las muestras se determinó mediante el cálculo del índice de absorbancia a diferentes longitudes de onda, y como puede observarse en el

Cuadro 5, para todas las diferentes longitudes de onda estudiadas, no se encuentran diferencias significativas, para los dos tipos de polvo de pitaya estudiados.

Cuadro 5. Comparación de las características del oscurecimiento no enzimático¹.

Tipo de secado	Índice de Absorbancia ²						
	340 nm	350nm	360 nm	420 nm	440 nm	450 nm	460 nm
Secado por liofilización	8,833 (± 0,769)	8,278 (± 0,628)	7,870 (± 0,524)	6,614 (± 0,256)	6,707 (± 0,323)	6,878 (± 0,410)	9,069 (± 1,161)
Secado por atomización	8,900 (± 0,816)	7,999 (± 0,052)	7,920 (± 0,565)	6,083 (± 0,003)	6,089 (± 0,001)	6,759 (± 0,453)	10,809 (± 4,533)
Prob> t ²	0,930	0,589	0,938	0,143	0,133	0,834	0,291

¹Análisis por triplicado (± error estándar)

² Índice de Absorbancia: Absorbancia a λ multiplicado por factor de dilución (Billaud et al., 2004).

5.4 Evaluación del color de muestras yogurt con adición de los ingredientes colorantes de pitaya en forma de polvo durante el almacenamiento.

El Cuadro 6 muestra las regresiones lineales de los parámetros de color (variables respuesta) con respecto al tiempo de almacenamiento como variable predictora.

Para el parámetro L* se obtuvo un cambio significativo durante el tiempo de almacenamiento ($p < 0,05$) para ambos tipos de polvo y la pendiente fue ligeramente mayor en el polvo atomizado que en el polvo liofilizado, por lo que el yogurt coloreado con el polvo atomizado mostró una mayor tendencia hacia un aumento en la luminosidad que el liofilizado.

En cuanto al parámetro a* la pendiente negativa del polvo liofilizado fue mayor a la pendiente negativa del polvo atomizado, de estas dos sólo el polvo liofilizado tuvo un

cambio significativo durante el tiempo de almacenamiento ($p < 0,05$), lo que indicó una tendencia a disminuir en a^* para el polvo liofilizado.

En cuanto al parámetro b^* se obtuvo un cambio no significativo durante el tiempo de almacenamiento en ambos tipos de polvos.

Con el parámetro de color croma, la pendiente del polvo liofilizado fue mayor a la pendiente del polvo atomizado y únicamente se obtuvo un cambio significativo en el tiempo para el polvo liofilizado, lo que mostró una mayor tendencia a disminuir en la saturación a través del tiempo de almacenamiento.

Para el parámetro h° se obtuvo igualmente un cambio no significativo estadísticamente durante el tiempo de almacenamiento en ambos tipos de polvo.

Debido a que para el R^2 no se tuvieron valores de ajuste cercanos a 1, todos los resultados proporcionan lineamientos tentativos para la caracterización del comportamiento de los polvos, sin poder ser tomados como verdades absolutas.

Cuadro 6. Regresión lineal de los parámetros de color analizados durante el almacenamiento entre los polvos obtenidos mediante liofilización y secado por atomización.

Parámetro	Tipo de secado		Pendiente	Intercepto	R ²	Valor P																																																																			
L*	Secado	por	0,0518	85,159	0,3160	0,0080**																																																																			
	liofilización						a*	Secado	por	-0,0436	8,879	0,5490	<0.0001**	atomización		b*	Secado	por	-0,0564	8,758	0,1799	0,0553	atomización		c*	Secado	por	0,0025	1,556	0,0004	0,9250	liofilización		h°	Secado	por	-0,0286	1,966	0,0456	0,3523	atomización		C*	Secado	por	-0,0454	8,969	0,4250	0,0014**	liofilización		h°	Secado	por	-0,0646	9,016	0,1710	0,0618	atomización		h°	Secado	por	0,0930	9,771	0,0150	0,5886	liofilización		h°	Secado	por	-0,0540
a*	Secado	por	-0,0436	8,879	0,5490	<0.0001**																																																																			
	atomización						b*	Secado	por	-0,0564	8,758	0,1799	0,0553	atomización		c*	Secado	por	0,0025	1,556	0,0004	0,9250	liofilización		h°	Secado	por	-0,0286	1,966	0,0456	0,3523	atomización		C*	Secado	por	-0,0454	8,969	0,4250	0,0014**	liofilización		h°	Secado	por	-0,0646	9,016	0,1710	0,0618	atomización		h°	Secado	por	0,0930	9,771	0,0150	0,5886	liofilización		h°	Secado	por	-0,0540	12,053	0,0061	0,7346	atomización					
b*	Secado	por	-0,0564	8,758	0,1799	0,0553																																																																			
	atomización						c*	Secado	por	0,0025	1,556	0,0004	0,9250	liofilización		h°	Secado	por	-0,0286	1,966	0,0456	0,3523	atomización		C*	Secado	por	-0,0454	8,969	0,4250	0,0014**	liofilización		h°	Secado	por	-0,0646	9,016	0,1710	0,0618	atomización		h°	Secado	por	0,0930	9,771	0,0150	0,5886	liofilización		h°	Secado	por	-0,0540	12,053	0,0061	0,7346	atomización														
c*	Secado	por	0,0025	1,556	0,0004	0,9250																																																																			
	liofilización						h°	Secado	por	-0,0286	1,966	0,0456	0,3523	atomización		C*	Secado	por	-0,0454	8,969	0,4250	0,0014**	liofilización		h°	Secado	por	-0,0646	9,016	0,1710	0,0618	atomización		h°	Secado	por	0,0930	9,771	0,0150	0,5886	liofilización		h°	Secado	por	-0,0540	12,053	0,0061	0,7346	atomización																							
h°	Secado	por	-0,0286	1,966	0,0456	0,3523																																																																			
	atomización						C*	Secado	por	-0,0454	8,969	0,4250	0,0014**	liofilización		h°	Secado	por	-0,0646	9,016	0,1710	0,0618	atomización		h°	Secado	por	0,0930	9,771	0,0150	0,5886	liofilización		h°	Secado	por	-0,0540	12,053	0,0061	0,7346	atomización																																
C*	Secado	por	-0,0454	8,969	0,4250	0,0014**																																																																			
	liofilización						h°	Secado	por	-0,0646	9,016	0,1710	0,0618	atomización		h°	Secado	por	0,0930	9,771	0,0150	0,5886	liofilización		h°	Secado	por	-0,0540	12,053	0,0061	0,7346	atomización																																									
h°	Secado	por	-0,0646	9,016	0,1710	0,0618																																																																			
	atomización						h°	Secado	por	0,0930	9,771	0,0150	0,5886	liofilización		h°	Secado	por	-0,0540	12,053	0,0061	0,7346	atomización																																																		
h°	Secado	por	0,0930	9,771	0,0150	0,5886																																																																			
	liofilización						h°	Secado	por	-0,0540	12,053	0,0061	0,7346	atomización																																																											
h°	Secado	por	-0,0540	12,053	0,0061	0,7346																																																																			
	atomización																																																																								

** Significativo al 5% de significancia.

En las Figuras 8 a 13, se muestra el comportamiento de los parámetros de color L^* , a^* , b^* , C^* y h° , en el yogurt coloreado con polvo de pitaya, a lo largo de los 16 días del estudio de almacenamiento, en cuanto al comportamiento de L^* , durante los primeros días de almacenamiento se evidenció una tendencia marcada al aumento de la luminosidad de las muestras por degradación del pigmento, pero con el avance del tiempo mostró una tendencia hacia la estabilización, para el yogurt coloreado con polvo secado por atomización, la diferencia obtenida en L^* fue mayor durante el tiempo de almacenamiento, debido a que el mismo presentó valores más altos en este parámetro si se medía en los polvos como tales, como se evidencia en el Cuadro 1.

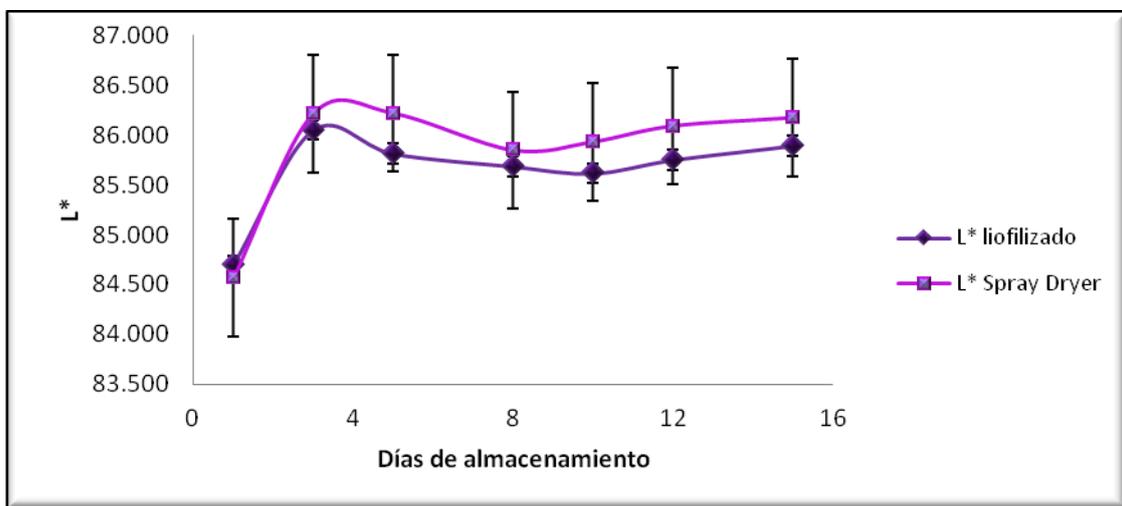


Figura 8. Comportamiento del parámetro L^* , para yogurt natural coloreado con dos tipos de polvos secados por liofilización y por atomización, durante dieciséis días de almacenamiento.

En la Figura 9, se observa que el parámetro a^* , se comportó de forma muy similar a los parámetros C^* , b^* , h° , medidos en ambos tipos de polvo, con el tiempo a^* tendió a disminuir, por lo que la muestra se alejó más de la tonalidad roja a través del tiempo, adicionalmente el comportamiento encontrado concuerda con lo presentado en el cuadro 1, en donde para el polvo liofilizado, la magnitud de a^* fue significativamente mayor a la del polvo atomizado antes del almacenamiento.

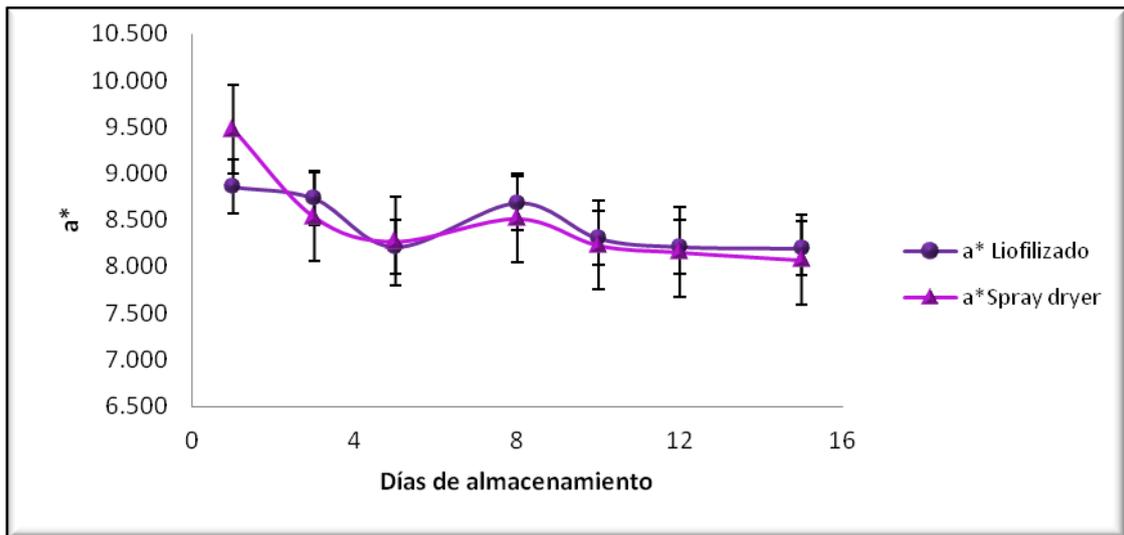


Figura 9. Comportamiento del parámetro a^* , para yogurt natural coloreado dos tipos de polvos secados por liofilización y por atomización, durante dieciséis días de almacenamiento.

Con el parámetro b^* , mostrado en la Figura 10 se obtuvo en los primeros días una marcada disminución, lo que hizo que la tonalidad del yogurt pasara de tonos más amarillentos hacia tonos más azulados, ésta disminución se recuperó y mostró una tendencia a la estabilización durante los quince días del tiempo de almacenamiento.

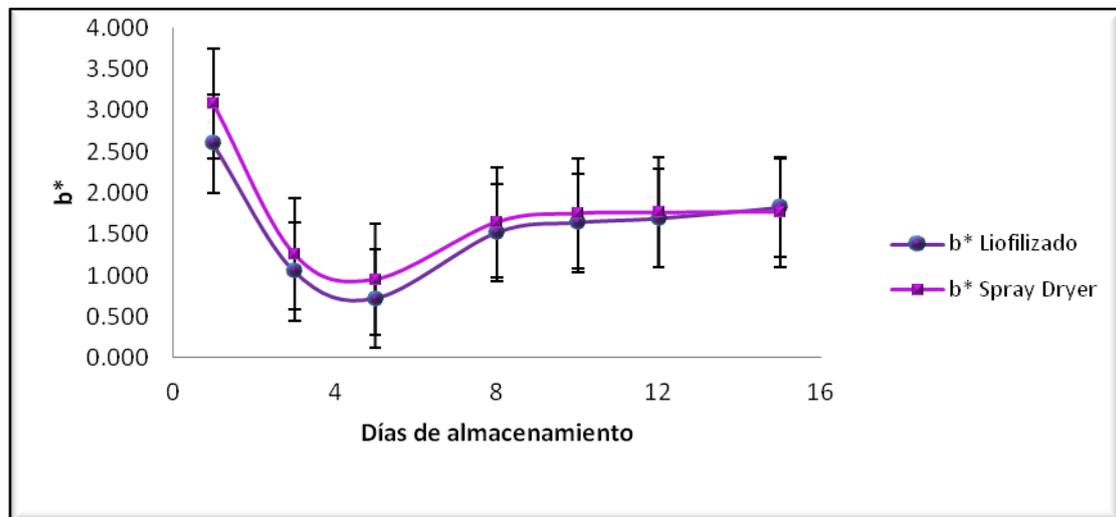


Figura 10. Comportamiento del parámetro b^* , para yogurt natural coloreado dos tipos de polvos secados por liofilización y por atomización, durante dieciséis días de almacenamiento.

El parámetro Croma, mostrado en la Figura 11, mostró una leve tendencia a disminuir con el tiempo, por lo que la saturación y pureza del color tendió a disminuir a lo largo del tiempo de almacenamiento.

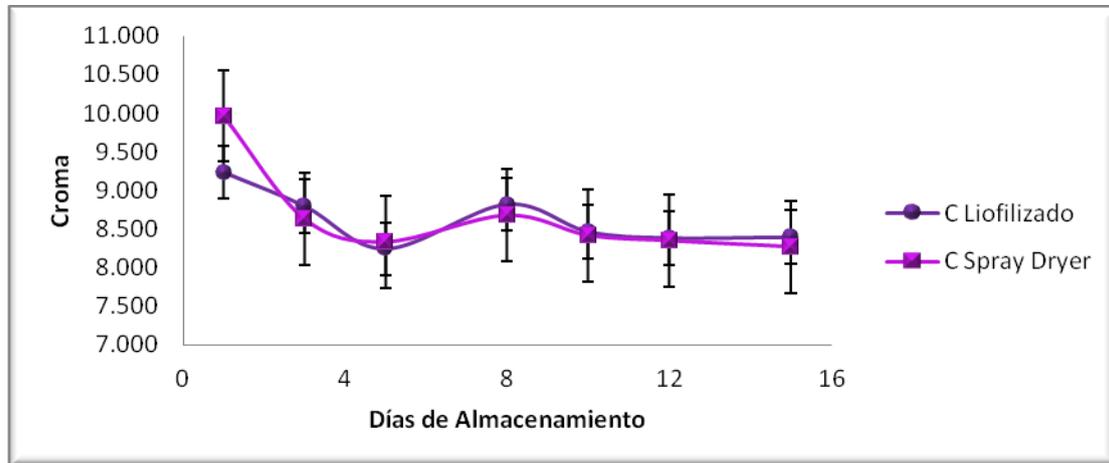


Figura 11. Comportamiento del parámetro Croma, para yogurt natural coloreado dos tipos de polvos secados por liofilización y por atomización, durante dieciséis días de almacenamiento.

En cuanto al ángulo de tono (h°) (Figura 12), las dos muestras presentaron un comportamiento muy similar a lo largo del tiempo del estudio, en donde los primeros días h° disminuyó sustancialmente y luego se recuperó, hasta estabilizarse hacia el final de la vida útil.

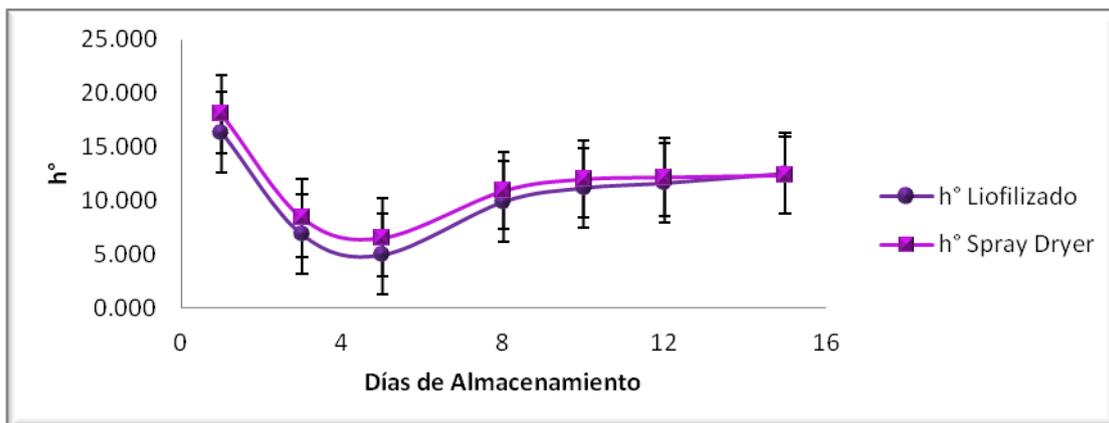


Figura 12. Comportamiento del ángulo h° , para yogurt natural coloreado dos tipos de polvos secados por liofilización y por atomización, durante dieciséis días de almacenamiento.

En la Figura 13, se muestra el comportamiento del cambio de color con respecto al día 1 del almacenamiento, en ambos tipos de muestras a través del tiempo, una vez más, el comportamiento fue muy similar en ambas y con el tiempo este parámetro tendió a aumentar.

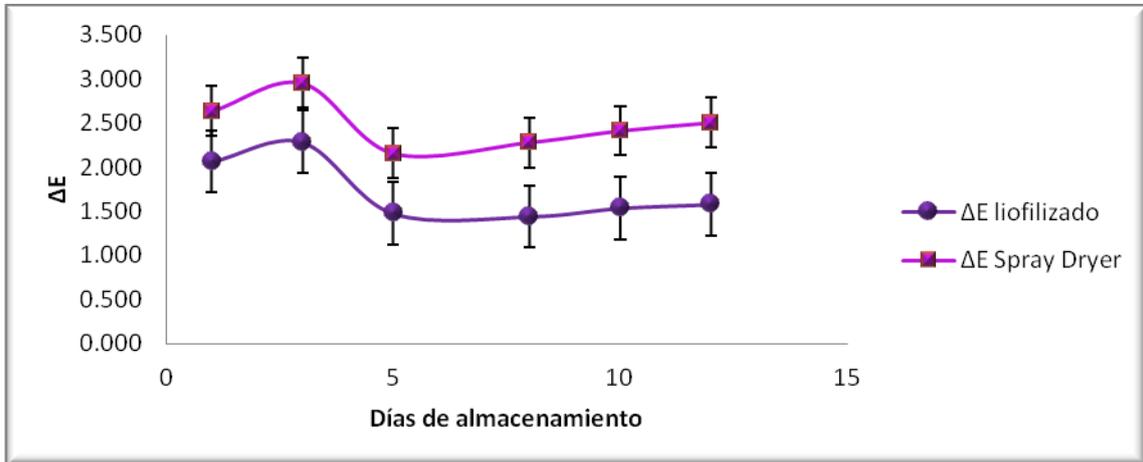


Figura 13. Comportamiento del ΔE para yogurt natural coloreado dos tipos de polvos secados por liofilización y por atomización, durante dieciséis días de almacenamiento.

En las Figuras 14 y 15 se observa imágenes de los ingredientes colorantes elaborados a base de pitaya, mediante secado por atomización y secado por liofilización respectivamente, luego de un período de mantenimiento de un mes en condiciones de congelación (-18°C) y protegidos de la luz solar.



Figura 14. Polvo obtenido a partir de jugo concentrado de pitaya (*Hylocereus* sp.) mediante secado por aspersión.



Figura 15. Polvo obtenido a partir de jugo concentrado de pitaya (*Hylocereus* sp.) mediante secado por liofilización.

5.5 Comparación sensorial de la aplicación de ingredientes colorantes a base de pitaya contra un colorante natural de remolacha roja.

5.5.1 Determinación de la diferencia mínima detectable por el ojo humano en cuanto a concentración de color.

En el panel sensorial realizado con 18 jueces, se encontró que la diferencia más pequeña detectable, fue de 0,02% de concentración (m/m) de polvo de pitaya (Cuadro 7), por lo que se tomó como la mínima diferencia, debido a que no se utilizó un ámbito de concentraciones suficientemente similar como para lograr que no se distinguiera la diferencia.

Cuadro 7. Concentraciones de colorante utilizadas, número de aciertos en detectar la muestra diferente, probabilidades asociadas a la cantidad de aciertos obtenida según la cantidad de jueces utilizada (18) y diferencias porcentuales entre cada concentración y 0,28%.

Concentración (%)	Aciertos	Probabilidad	Diferencia entre 0,28% y la concentración usada (%)
0,33	14	0,015	0,05
0,30	16	0,001	0,02
0,25	16	0,001	0,03
0,22	17	≤0,001	0,06
0,19	18	≤0,001	0,09

Según el Cuadro 8, se tuvo que el valor de la diferencia en el cambio de color obtenido fue de 1,490, tomando como base 0,28% y la concentración más cercana utilizada de 0,30%.

Cuadro 8. Valores obtenidos de la diferencia entre valores instrumentales, en el par de concentraciones utilizadas, en las que los jueces fueron capaces de percibir la diferencia mínima de 0,02 (0,30% y 0,28%).

ΔL^*	Δa^*	Δb^*	ΔE
1,43	0,29	0,29	1,490

5.5.2 Comparación sensorial de la aplicación de los polvos de pitaya obtenidos en yogurt coloreado con polvo liofilizado, yogurt coloreado con polvo atomizado y yogurt coloreado con polvo comercial de remolacha roja.

5.5.2.1 Variable color

En la prueba de comparación pareada utilizada para determinar si el consumidor podía detectar alguna diferencia entre un yogurt comercial coloreado con polvo de pitaya

líoilizado y un yogurt comercial coloreado con polvo de pitaya secado por atomización, (Cuadro 9), los jueces no encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos tipos de yogurt. Para pruebas posteriores se utilizó polvo secado por atomización como ingrediente colorante, ya que este presentó una mayor facilidad de manejo que el polvo elaborado por líoilización.

Cuadro 9. Resultado de comparación pareada 2-AFC en la comparación de dos muestras de yogurt comercial coloreadas con polvo de pitaya líoilizado y secado por atomización con un nivel de 5% de significancia.

Prueba	Aciertos	Probabilidad	Resultado
2-AFC	5	0,623	No significativo

También se realizaron dos pruebas de preferencia, con 60 panelistas cada una, en donde se comparó yogurt de fresa comercial con yogurt natural coloreado con polvo de pitaya atomizado y la otra prueba comparando yogurt coloreado con concentrado de remolacha y yogurt coloreado con polvo de pitaya atomizado como ingrediente colorante. Como puede observarse en el Cuadro 10, según las tablas binomiales de dos colas de Zwillinger & Kokoska (1999), pudo establecerse significativamente que en ambas pruebas se prefirió el yogurt coloreado con polvo de pitaya sobre el yogurt de fresa comercial y el coloreado con extracto de remolacha.

Cuadro 10. Resultado de prueba de preferencia en la comparación de dos muestras de yogurt comercial coloreadas con polvo de pitaya líoilizado y secado por atomización

Prueba	Prefieren yogurt de pitaya	Prefieren yogurt diferente de pitaya	No prefieren ningún yogurt presentado	Pruebas realizadas	Resultado
Remolacha - Pitaya	37	15	8	60	Significativo*
Fresa - Pitaya	38	17	5	60	Significativo*

* Nivel de significancia de 5%, según tablas de Zwillinger & Kokoska (1999).

5.5.2.2 Variable Sabor

Mediante la prueba de triángulo realizada a 128 panelistas (Cuadro 11), se observa que existe evidencia para inferir que efectivamente los panelistas pudieron detectar una diferencia en sabor entre las muestras de yogurt comercial coloreado con polvo de pitaya y las muestras coloreadas con concentrado de remolacha.

Cuadro 11. Comparación del sabor de dos muestras de yogurt comercial coloreadas una con polvo de pitaya y la otra con concentrado de remolacha mediante una prueba de triángulo.

Prueba	Aciertos	Pruebas realizadas	Valor esperado	Resultado
Triángulo	92	128	53	Significativo*

* Nivel de significancia de 5%, según tablas de Zwillinger & Kokoska (1999).

VI Discusión

6.1 Determinación de color del material deshidratado y del yogurt coloreado.

Con respecto a los parámetros de color como se puede observar en el Cuadro 1, para el parámetro L^* , se tiene que el polvo obtenido mediante secado por atomización presentó un valor significativamente mayor al obtenido por el polvo obtenido por liofilización, lo anterior coincide con Herbach *et al.* (2006b), en donde se encontró que el contenido de betalaínas, tanto acetiladas como no acetiladas, puede verse disminuido por acción de tratamientos térmicos, haciendo que el color púrpura-azulado de las betalaínas se vuelva menos intenso debido a la degradación sufrida, lo que da paso a la aparición de compuestos amarillos que permiten un mayor paso de la luz a través de la matriz que los contiene. Así mismo Herbach *et al.* (2007) encontraron que un incremento en L^* en jugo de pitaya tratado térmicamente se debe a la destrucción de betacianinas por acción de calor, lo que concuerda con la disminución de este factor para el polvo atomizado (Stintzing *et al.* 2002b).

Valores más altos en el componente C^* indican una mayor saturación del color (Shanda, 2007). Para el polvo secado por atomización el croma presentó un valor significativamente menor al del polvo liofilizado, lo que concuerda con el estudio realizado por Herbach *et al.* (2004), en donde se encontró que los tratamientos a altas temperaturas hacen que disminuya ligeramente la pureza del color, debido a un incremento en la cantidad de compuestos de degradación de betacianinas que tienen colores variados, (como por ejemplo el ácido betalámico que presenta una coloración amarilla) y son los responsables de la disminución de C^* , también se encontró que la mayor disminución en C^* fue para el tratamiento que tuvo la mayor exposición al calor, y si se toma en cuenta que para la atomización de polvo se necesitó temperaturas de 165°C y 90°C de entrada y salida respectivamente, lo que no sucedió con el polvo liofilizado en donde la mayor temperatura utilizada fue de 25°C, es entendible la disminución en C^* para el polvo atomizado (Herbach *et al.*, 2007).

En cuanto al ángulo de tono h° , en concordancia con lo encontrado en Herbach *et al.*, (2004), en el polvo liofilizado el ángulo fue mayor (más azul-púrpura)

significativamente al ángulo de tono del polvo atomizado, debido a que con los tratamientos térmicos se tienen una serie de degradaciones en el pigmento y el color cambia de azul-púrpura a tonalidades rojizas-amarillas. Cai & Corke (1999) también encontraron que h° disminuye ligeramente cuando la temperatura aumenta, en una publicación donde estudiaron el comportamiento de las betacianinas del *Amaranthus tricolor*. Este cambio de tonalidades según, Herbach *et al.* (2007), se debe a que el cambio de azul-púrpura a tonalidades amarillas puede estar asociado tanto a la aparición de compuestos amarillos producto de la degradación de las betacianinas, como por la formación de betaxantinas, producto de la condensación de los aminoácidos libres en el jugo de pitaya, con el ácido betalámico que es generado a partir de la hidrólisis de la betacianina.

Por otro lado el mayor valor de b^* encontrado en el polvo liofilizado, puede deberse a la aparición de ácido betalámico, producto de la degradación de la betanidina presente, el cual tiene una tonalidad amarilla según Herbach *et al.* (2006a).

En cuanto a la humedad Rodríguez *et al.* (2005), encontraron porcentajes de humedad muy similares en polvos secados por aspersión y liofilización en donde obtuvieron rangos que varían entre 3,97 y 6,41%, y según estos autores polvos con estas humedades pueden considerarse como “polvos secos”. Según el cuadro 1, el polvo secado por atomización presentó una cantidad significativamente mayor de humedad (6,70%) que el polvo secado por liofilización (6,32%), hecho que pudo deberse a que durante la preparación de la muestra el polvo atomizado absorbiera una mayor cantidad de agua que el polvo liofilizado, lo anterior podría ser objeto de estudio en posteriores trabajos de investigación.

Además, se observa en las Figuras 14 y 15 que el polvo atomizado es mucho más claro, menos azul, y menos saturado en cuanto a color, que el polvo liofilizado, por lo que concuerda con los valores de L^* , C^* y h° obtenidos, y esto como se comentó con anterioridad, puede deberse a que con el aumento de la temperatura, las reacciones de degradación de los compuestos betaláinicos se vieron favorecidas, y los compuestos con tonalidades rojo-azuladas se degradaron a compuestos con

tonalidades blanco-amarillas (Cai & Corke, 1999; Herbach *et al.*, 2004; Herbach *et al.*, 2007).

También es importante tomar en cuenta que aunque el perfil de ambos polvos no presentó diferencias significativas, el color sí cambió notablemente, lo que se debe al efecto físico que provocaron sobre las partículas los dos métodos de secado estudiados, ya que con el secado por atomización (con la adición de maltodextrina), se tendieron a formar estructuras en forma de esferas, mientras que con la liofilización se formaron pequeños cristales de agua que luego se sublimaron y dejaron en su lugar canales o agujeros que dan lugar a partículas de estructura porosa y no uniforme. Este efecto físico también influyó en la higroscopicidad y manejo de los polvos formados, ya que entre menos rugosa y más uniforme sea la partícula formada, tendrá una menor tendencia a la adsorción de humedad (Al-Hakim & Stapley, 2004).

6.2 Contenido de betalaínas

Esquivel *et al.* (2007c), encontraron un contenido total de betalaínas en la pulpa de diferentes genotipos de pitaya, que está entre 717,1 mg/L y 474,1 mg/L; en cuanto a la concentración de betalaínas encontrada en ambos tipos de polvo, se obtuvo una concentración de 1418,13 mg/kg para el polvo liofilizado, y de 1195,10 mg/kg para el polvo secado por atomización. La concentración de betalaínas encontradas en el polvo liofilizado fue significativamente mayor ($p < 0,05$) a la encontrada en el polvo secado por atomización, lo que concuerda con lo descrito por Herbach *et al.* (2007), en donde se encuentra que los tratamientos térmicos producen la degradación de las betalaínas en jugo de pitaya tratado térmicamente, por lo que se puede asumir que las temperaturas utilizadas para secar el polvo por atomización tuvieron un efecto en la degradación del contenido total de betalaínas del polvo. Este resultado respalda las diferencias de color discutidas en la sección anterior.

6.3 Comparación de los perfiles de la betacianinas presentes en los polvos obtenidos mediante liofilización y secado por atomización.

A partir de los datos reportados por Esquivel *et al.* (2007) y Schweiggert *et al.* (2009), se identificaron y se asignaron los nombres de los compuestos presentes en el

cromatograma, de acuerdo a los tiempos de retención (tr) reportados previamente por ambos autores, como sigue: para la betanina (tr: 27,5 s), la isobetanina (tr: 31,2 s), la betanidina (tr: 35,5 s), la filocactina (tr: 39,47 s) y la isobetanina (tr: 42,5 s). El perfil de betalaínas observado para ambos tipos de polvo no presentó diferencias entre si, a pesar de que la concentración de betalaínas fue estadísticamente diferente, lo anterior, según Herbach *et al.* (2007), puede deberse a que los tratamientos térmicos pueden producir una degradación en los compuestos betalaínicos, aunque no se produzca un cambio en el perfil de los compuestos.

En cuanto al porcentaje de cada betacianina en los polvos, se tiene que no presentaron diferencias estadísticamente medibles entre ellos. De acuerdo con las observaciones de Schweiggert *et al.* (2009), la betanina, isobetanina y filocactina son degradadas en el jugo de pitaya tratado enzimáticamente a sus correspondientes betacianidinas, que son betanidina e isobetanidina, que de acuerdo con el Cuadro 3 aumentaron sus porcentajes con respecto a las anteriores, lo que podría atribuirse a la actividad de la β -glucosidasa endógena, que puede convertir las primeras a sus correspondientes aglicones, actividad que ha sido reportada también en remolacha roja, en donde se tuvo el mismo comportamiento (Czyzowska *et al.*, 2006). La cantidad de betanidina encontrada en los polvos estudiados concuerda con la cantidad reportada por Schweiggert *et al.* (2009), para una pulpa de pitaya macerada, por lo que puede presumirse que el efecto de los tratamientos térmicos no disminuye la cantidad de esta betacianidina en el polvo con respecto a la pulpa.

6.4 Acido L-ascórbico e HMF

Como se puede observar en el Cuadro 4, la cantidad de ácido ascórbico de la muestra liofilizada fue significativamente mayor, a la encontrada en la muestra secada por atomización. Durante la maceración enzimática del jugo de pitaya se agregó 0,92% de ácido ascórbico de acuerdo a la metodología propuesta por Schweiggert *et al.*, (2009). A pesar de lo anterior los resultados obtenidos para ambos tipos de polvo fueron inclusive, mucho menores que los obtenidos por Esquivel *et al.* (2007c), para jugo de pitaya sin macerar. Lo anterior puede estar asociado con el proceso de elaboración de los jugos utilizados para producir los polvos, pues se partió de un concentrado de los

mismos, que para ser elaborado requirió de una alta temperatura (90°C) por un lapso de 45 minutos, por lo que la cantidad de ácido ascórbico presente en el jugo macerado y el adicionado pudo haber disminuido en esta etapa. El polvo liofilizado mostró una mayor cantidad, ya que para la liofilización la muestra se mantuvo a una temperatura máxima de 25°C. Lo anterior concuerda con Moßhammer *et al.* (2006), en donde se encontró una pérdida mayor de vitamina C en un polvo de jugo de nopal atomizado que en un polvo liofilizado, debido a la mayor exposición a altas temperaturas comentada anteriormente.

El 5-hidroxi-metilfurfural (HMF) es un compuesto que se acepta generalmente como un indicador de tratamiento térmico. El mismo se deriva de la glucosa después de un tratamiento térmico y en condiciones de bajo pH. En ninguna de las muestras estudiadas se encontró dicho compuesto, lo que indica que el calentamiento al que se sometieron las muestras estudiadas no fue lo suficientemente severo como para producir HMF, a pesar de la presencia de glucosa reportada para la pulpa de pitaya (Moßhammer *et al.*, 2006; Esquivel, 2007a).

6.5 Pardeamiento no enzimático

Según Esquivel *et al.* (2007a), la pitaya es rica en glucosa y fructosa, lo que ocasiona que la pitaya sea muy sensible a reacciones como las de pardeamiento no enzimático. De acuerdo con Billaud *et al.* (2004) a longitudes de onda que comprenden entre los 340-360 nm, se puede monitorear compuestos intermedios de la reacción de Maillard como por ejemplo pre-melanoidinas solubles, y a longitudes de onda que van de los 420-460 nm, se puede monitorear compuestos avanzados de dicha reacción.

Si se observa los datos del Cuadro 5, a 420 nm y 440 nm, a pesar de que las diferencias entre los datos encontrados a todas las longitudes de onda estudiadas no fueron estadísticamente significativas, se tuvo un índice de absorbancia ligeramente mayor en el polvo liofilizado, lo que concuerda con Moßhammer *et al.* (2006), en donde también encontraron un ligero aumento para un polvo liofilizado de nopal, con respecto al polvo atomizado. Billaud *et al.* (2004) encontraron que la absorbancia a 460 nm se debe a la presencia de compuestos de Maillard derivados de la glucosa cuando se trata térmicamente a 90°C, en presencia de otros compuestos reactivos como el glutatión.

En cuanto al rango de longitudes de onda de 340 nm-360 nm en donde se monitorean las pre-melanoidinas solubles. Moßhammer *et al.* (2006), obtuvieron un pequeño incremento en el índice de absorbancia para el polvo liofilizado, en donde se indica claramente la formación de pre-melanoidinas como compuestos intermediarios de la reacción.

Según los datos del Cuadro 5, para ambos tipos de polvo estudiados no se encontraron diferencias significativas, lo anterior concuerda con lo propuesto por Moßhammer *et al.* (2005), en donde a pesar de que la pitaya es rica en azúcares, el ácido betalámico es un compuesto amino y además sufrió exposición a altas temperaturas en el caso del polvo atomizado, no aumentó considerablemente la presencia de compuestos de la reacción de Maillard, lo que puede atribuirse al hecho de que a la pulpa se le agregó 0,92% de ácido ascórbico, lo que provocó que en disolución el concentrado tuviese un pH de 4,0 a 4,1, y este pH se mantiene lejos de los pH's óptimos que se necesitan para que se lleve a cabo dicha reacción, ya que según Belitz & Grosch, (1997), se necesita de pH's alcalinos.

6.6 Estudio de almacenamiento y medición del color

Para evaluar el efecto del tiempo sobre los parámetros de color en yogurt coloreado con ambos tipos de polvo, se realizó un análisis de regresión lineal, para poder conocer la relación lineal y la dependencia que existe entre dos variables. Además, la pendiente permite determinar si la variable dependiente aumenta o disminuye significativamente con el tiempo (Filipini, 2008).

El Cuadro 6 muestra las regresiones lineales de los parámetros de color con respecto al tiempo de almacenamiento. Para el parámetro L* se obtuvo un cambio significativo ($p < 0,05$) para el yogurt coloreado con ambos tipos de polvo, y la pendiente mostró una mayor tendencia al aumento en el yogurt con polvo atomizado que en el yogurt con polvo liofilizado. Los resultados obtenidos van acorde a lo mencionado en la literatura, ya que el polvo atomizado presentó una pendiente mayor y por lo tanto, una mayor tendencia al aumento de la luminosidad a través del tiempo, debido principalmente a que con la temperatura se incrementaron los compuestos de degradación de las betacianinas, y el color pasó de tonalidades púrpura-azuladas a blanco-amarillas. Esto

indica que aunque el efecto de la temperatura fue puntual, desde el inicio el polvo atomizado podría tener una mayor concentración de compuestos cercanos a la degradación y por lo tanto, presentar una mayor tendencia a la luminosidad con el tiempo de almacenamiento que el polvo liofilizado no presentó (Herbach *et al.*, 2006b; Herbach *et al.*, 2007).

El parámetro a^* obtuvo un cambio significativo ($p < 0,05$) para el yogurt con polvo liofilizado, en donde su pendiente negativa fue mayor que la pendiente del yogurt coloreado con polvo atomizado, por lo que mostró una tendencia a la disminución de este parámetro durante el tiempo de almacenamiento, valores más altos de a^* tendían a ser más rojos. Según el cuadro 1 y las Figuras 14 y 15, se observa que el polvo liofilizado presentó coloraciones más rojizas que el polvo atomizado, además el hecho de que la pendiente para el yogurt con polvo liofilizado era ligeramente mayor, indicó que tuvo un aumento más pronunciado de a^* , a través del tiempo y por lo tanto mantuvo los colores más rojos durante el almacenamiento del yogurt coloreado con polvo liofilizado. Según Castellar *et al.* (2003), la degradación de los pigmentos responsables del color rojo se da en mayor grado a temperaturas altas, lo que explica en gran medida el comportamiento anterior.

En cuanto al parámetro b^* se obtuvo un cambio no significativo para el yogurt coloreado con ambos tipos de polvo. Con el parámetro de color croma, el yogurt coloreado con polvo secado por liofilización mostró una tendencia hacia un cambio en el tiempo, en donde su pendiente fue mayor a la del yogurt coloreado con polvo atomizado, por lo cual mostró una mayor tendencia a un aumento en la saturación a través del tiempo de almacenamiento, así mismo en el cuadro 1, se observa un mayor valor de C^* para el yogurt coloreado con polvo liofilizado. Según Herbach *et al.* (2006b), un incremento en la cantidad de compuestos de degradación de diversos colores van a producir una disminución en C^* , esto se debe a que un aumento en los valores de a^* y b^* , (como los obtenidos con el polvo liofilizado) provoca un grado de saturación mayor, y un aumento en la saturación (C^*), puede generar que el color se vea más puro, pero no necesariamente sea color que se desea.

Para el parámetro h° se obtuvo un cambio no significativo yogurt coloreado con ambos tipos de polvo, lo que indicó que no mostraron una tendencia al cambio durante el tiempo de almacenamiento de forma significativa, este resultado fue muy positivo si se toma en cuenta que Herbach *et al.* (2004) dicen que la degradación de las betalaínas se puede ver reflejada por medio del ángulo de tono h° , de forma que un incremento en el ángulo h° , significa una degradación mayor del pigmento.

En todos los parámetros discutidos, se puede presumir que la maltodextrina agregada podría también tener un efecto cromoprotector, pero el estudio de este factor quedaría para posteriores investigaciones (Carlson, R. 2001).

6.7 Comparación sensorial de la aplicación de ingredientes colorantes a base de pitaya contra un colorante natural de remolacha roja

Según los Cuadros 7 y 8 los panelistas detectaron una diferencia en el color cuando la diferencia en concentración de polvo en el yogurt fue de 0,02%, lo que correspondió a un ΔE^* de 1,49, esto implica que con este ΔE^* los panelistas pudieron detectar una diferencia de color. Se pretendía tomar el valor de 1,49 para finalizar el estudio de almacenamiento, pero como puede observarse en la Figura 15, desde la primera medición, a los dos días se tuvo una diferencia de color superior a 1,49, con respecto al día 0, por lo que se siguió midiendo cada dos días hasta que las propiedades sensoriales del yogurt cambiaran y determinaran el fin de su vida de anaquel.

El valor encontrado concuerda con lo reportado en la literatura, ya que Gonnet (2003), postula que una diferencia de un valor mínimo de $\Delta E^*=1$, marca el umbral de cambios perceptibles visibles, para diferenciar entre dos tipos de muestra, mientras que otros autores como Castellar *et al.* (2006), discrepan con lo anterior y mantienen que una diferencia mínima de $\Delta E^*=5$ es requerida para poder distinguir una muestra de otra visualmente. Por otro lado si se observa la Figura 13, se puede apreciar como el cambio de color llega a estabilizarse durante el tiempo de almacenamiento. Además durante este mismo período no se observa un cambio de color a partir del segundo día, en una magnitud mayor a 1,49 (valor encontrado por los panelistas), con respecto a las mediciones siguientes, por lo que se puede asumir que durante los 16 días que duró el estudio, el consumidor no podría detectar la diferencia en coloración entre la

muestra que tiene el segundo día y una muestra que tenga 16 días bajo condiciones de refrigeración.

Para la variable color se realizó una prueba 2-AFC ya que se esperaba que las diferencias entre tonalidades de ambos tipos de polvo al colorear el yogurt fuese muy pequeña, y según Ennis (1993), los métodos de escogencia forzada alternativa son superiores que los métodos dúo-trío y triángulo para la detección de pequeñas diferencias con un alto nivel de confianza. En efecto, según el Cuadro 9, se puede observar que los panelistas no encontraron diferencias entre las muestras de yogurt coloreadas con polvo atomizado y con polvo liofilizado. El valor esperado se determinó con un 5% de significancia, por lo que se puede inferir que a ese nivel de significancia, si existiesen diferencias entre las muestras, estas no podrían ser detectadas por los jueces.

Debido a que los jueces no pudieron detectar diferencias entre los yogures coloreados con ambos tipos de polvo se tomó la decisión de utilizar el polvo atomizado, ya que presentaba mejores características para el manejo de las muestras que el polvo liofilizado.

También se realizó dos pruebas de preferencia a 60 panelistas, en donde la primera prueba consistió en establecer preferencia entre un yogurt de fresa comercial y uno coloreado con polvo de pitaya obtenido por atomización y la segunda prueba se estableció entre el yogurt coloreado con concentrado de remolacha y el yogurt coloreado con polvo de pitaya obtenido por atomización, como se observa en el Cuadro 10. Con un valor de 5% de significancia en ambas pruebas se tuvo que el yogurt coloreado con pitaya se prefirió sobre el yogurt de fresa comercial y sobre el yogurt coloreado con concentrado de remolacha.

Esta prueba buscó si los jueces preferían un yogurt en específico o si no tenían preferencia por ninguno, así con un 5% de significancia se puede inferir que realmente se encontraron diferencias y uno de los dos productos se prefiere. Lo anterior implica que hay diferencias en las categorías analizadas, siendo que la categoría en la que se encuentran la mayoría de consumidores fue el yogurt coloreado con polvo de pitaya, así puede concluirse que la mayoría de consumidores (jueces) lo prefirió. Estos

resultados son muy útiles si se toma en cuenta que la mayoría de panelistas consume este tipo de alimentos con bastante regularidad.

Mediante esta prueba se pueden observar las preferencias de los panelistas por un producto u otro, sin embargo, no se sabe que tanto le gustan a los consumidores, ni que es lo que les gusta, por lo que no se puede decir que debido a que el yogurt coloreado con pitaya cuente con mayor preferencia respecto al otro, sea más exitoso en el mercado (Stone & Sidel, 2004).

En cuanto a sabor, como se comentó con anterioridad, diferentes autores reportan para el concentrado de remolacha un sabor “terroso”, por lo que se realizó una prueba de triángulo para saber si los panelistas detectaban la diferencia en cuanto a sabor entre un yogurt azucarado y coloreado con polvo de pitaya y uno azucarado y coloreado con concentrado de remolacha; según el Cuadro 11, se pudo establecer a un nivel de significancia del 5% que efectivamente los consumidores evaluados pudieron detectar una diferencia en sabor.

Por otra parte, se tiene que la prueba triangular, a pesar de ser muy similar a la prueba de 3-AFC, la cantidad de jueces que logran encontrar la diferencia en las muestras fue menor, debido a que en la instrucción consiste en encontrar la muestra diferente, más no se especifica la naturaleza de esta diferencia. La prueba triangular se basa en la estrategia de comparación de distancias, por tanto la distancia entre el sabor en ambos fue suficientemente grande para que los jueces percibieran la diferencia (Lawless & Heymann, 1999).

VII. Conclusiones

Se detectaron diferencias significativas para el parámetro L^* entre los polvos liofilizado y secado por atomización, en donde este último presenta una mayor luminosidad.

El polvo atomizado es mucho más claro, menos azul, y menos saturado en cuanto a color, que el polvo liofilizado.

Los parámetros C^* y h° para el polvo liofilizado son mayores estadísticamente, que los mismos valores para el polvo secado por atomización, los valores de C^* mantienen esta relación en yogurt coloreado con polvo de pitaya a través del tiempo de almacenamiento también, mientras que b^* y el ángulo h° no mostraron cambios significativos durante el mismo período.

Se observó un mayor contenido de humedad para el polvo secado por atomización que para el polvo liofilizado.

Se observó un mayor contenido de betalaínas en el polvo liofilizado que en el polvo atomizado.

El perfil de betalaínas encontrado en ambos tipos de polvo no presentó diferencias estadísticamente significativas, a pesar de que el contenido total de betalaínas presentó diferencias entre sí para los dos tipos de polvo, siendo el liofilizado el que presentó un mayor contenido.

En cuanto al contenido de ácido ascórbico, en el polvo secado por atomización, presenta un menor contenido que en el polvo liofilizado.

A pesar de una mayor exposición a altas temperaturas el polvo secado por atomización no presentó evidencia de formación de compuestos propios de la reacción de Maillard, ni de formación de 5-HMF, que también están ausentes en el polvo liofilizado.

Durante el tiempo de almacenamiento en la aplicación en yogurt natural, el polvo liofilizado mantuvo colores más rojos (a^*) que el polvo secado por atomización.

Los parámetros h° y b^* no presentaron cambios estadísticamente significativos durante el tiempo de almacenamiento del yogurt coloreado con los polvos de pitaya.

Los panelistas detectaron una diferencia en el color cuando la diferencia en concentración de polvo de pitaya es de 0,02% (m/m) en yogurt natural.

Los jueces no pudieron detectar una diferencia, si ésta existiera, entre un yogurt coloreado con polvo liofilizado y uno con polvo secado por aspersion.

Se encontró preferencia por el color del yogurt coloreado con polvo de pitaya atomizado sobre el yogurt de fresa comercial y el yogurt coloreado con concentrado de remolacha.

Los jueces pudieron percibir un sabor diferente entre el yogurt coloreado con concentrado de remolacha y el yogurt coloreado con polvo de pitaya.

VIII. Recomendaciones

Realizar estudios de almacenamiento para determinar la estabilidad tanto física como microbiológica del yogurt coloreado con polvo de pitaya.

Realizar estudios similares en diferentes matrices alimentarias como bebidas, dulces, y snacks.

Estudiar en posteriores investigaciones el efecto cromoprotector que se presume tiene la maltodextrina.

IX. Bibliografía citada

AL-HAKIM, K. & STAPLEY, A. 2004. Morphology of spray-dried and spray-freeze-dried whey powders. *Drying. C*: 1720-1726.

ANDERSON, N. 2003. European and US fruit and vegetable extracts and powders markets, Frost and Sullivan, Estados Unidos. INTERNET. <http://www.frost.com>

ATTOE, L. & VON ELBE, J. 1985. Oxygen involvement in betanine degradation: Effect of antioxidants. *Journal of Food Science*. 50: 106.

ATTOE, L. & VON ELBE, J. 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*. 44: 2365-2376.

AZIS, A., BAKAR, A., PING, C., RAHMAN, R., KARIM, R., & CHUN C. 2009 Essential fatty acids of pitaya (dragon fruit) seed oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 114: 561-564

BADUI, S. 1993. *Química de los Alimentos*. 3° Ed. Pearson Educación. México

BELITZ, H. & GROSCH, W. 1997. *Química de los alimentos*. 2a ed. Acribia. Zaragoza.

BELTRÁN, M., OLIVA, T, GALLARDO, T, & OSORIO, G. 2009. Ácido ascórbico, contenido fenólico, y capacidad antioxidante de las Variedades roja, cereza, amarilla y blanca del fruto del Cactus de la pitaya (*stenocereus stellatus* riccobono). *Agrociencia*. 43.

BILLAUD, C., BRUN-MÉRIMÉE, S., LOUARME, L. & NICOLAS, J. 2004. Effect of glutathione and Maillard reaction products prepared from glucose or fructose with glutathione on polyphenoloxidase from apple—I: Enzymatic browning and enzyme activity inhibition. *Food Chemistry*. 84: 223-233.

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(5): 869-873.
- CAI, Y. & CORKE, H. 2000. Production and Properties of Spray-dried *Amaranthus* Betacyanin Pigments. *Journal of Food Science*. 65(6): 1248-1252.
- CAI, Y., SUN, M. & CORKE, H. 2003. Antioxidant activity of betalains from plants of the Amaranthaceae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51(8): 2288-2294.
- CALDERÓN, S. 2008. Evaluación sensorial de los alimentos. Universidad de Costa Rica, San José. Comunicación personal.
- CARLSSON, R. 2001. Formulación de un agente pigmentante a base de carotenoides extraídos de cascarilla comercial de Rosa Mosqueta (*Rosa rubiginosa*) para su uso en alimentos. Universidad Austral de Chile, Valdivia
- CASTELLANOS, 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 (14): 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(9): 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.
- CASTELLAR, M., OBÓN, J., ALACID, M., & FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. 2008. Fermentation of *Opuntia stricta* (Haw.) Fruits for Betalains Concentration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56 (11): 4253–4257.

- CASTILLO, R., LIBERA, M., BRECHÚ, A. & MÁRQUEZ, J. 2003 Compatibilidad sexual entre dos tipos de *Hylocerus* (Cactaceae). *Revista de Biología Tropical*. 51(3-4): 699-705.
- CENTURIÓN, A., SOLÍS, S., SAUCEDO, C., BAEZ, R. & SAURI, E. 2008. Cambios químicos, físicos y sensoriales en frutos de pitahaya (*Hylocereus undatus*) durante su desarrollo. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 31: 1-5.
- CHEGINI, G. & GHOBADIAN, B. 2005. Effect of Spray-Drying Conditions on Physical Properties of Orange Juice Powder. *Drying Technology*. 23(3): 657-668.
- COSTA RICA. MINISTERIO DE ECONOMÍA INDUSTRIA Y COMERCIO (MEIC). 1989. Norma para el yogur (yogurt) y el yogur azucarado. *La Gaceta* N°140 San José. 4p.
- CZYZOWSKA, A., KLEWICKA, E. & LIBUDZISZ, Z. 2006. The influence of lactic acid fermentation process of red beet juice on the stability of biologically active colorants *European Food Research and Technology Journal*. 223:110–116
- DELGADO, F. & PAREDES, O. 2002. *Natural Colorants for Food and Nutraceutical Uses*. Boca Ratón, FL. CRC Press.
- DESROSIER, N. 1989. *Elementos de tecnología de los alimentos*. México, D.F. Continental.
- DOWNHAM, A. & COLLINS, P. 2000. Colouring our foods in the last and next millennium. *International Journal of Food Science and Technology*. 35: 5-22.
- ENNIS, D. 1993. The power of sensory discrimination methods. *Journal of Sensory Studies*. 26(5): 371–382.
- ERSUS S. & YURDAGEL U. 2007 Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucuscarota*) by spray drier. *Journal of Food Engineering*. 80: 805-812
- 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. & 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. & 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. & 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.

FARRÉ, R. 1982 Los colorantes alimentarios de los alimentos. Alimentaria. 387: 21-32

FERNÁNDEZ, E., PUIG, J., TERRON, J. & VINYALS, M. 2006. Comunicación y alegaciones de salud en los lácteos funcionales: análisis de casos de la comunicación corporativa en las webs y la publicidad televisiva. Universidad Autónoma de Barcelona. España.

FILIPINI, S. 2008. Análisis de regresión y correlación. Fisicanet. Argentina. INTERNET <http://www.fisicanet.com.ar>

FLORES, C. & CORRALES, J., 2003. Pitayas y Pitayas: producción, poscosecha, industrialización y comercialización. México, Universidad Autónoma de Chapingo, CUESTAAM.

GABAS, A.; TELIS, V.; SOBRAL, P., & TELIS, J. 2007. Effects of malthodextrin and arabic gum in water vapor sorption thermodynamic properties of vacuum dried pineapple powder. Journal of Food Engineering. 82: 246-252.

GARCÍA, C., GONZÁLEZ, M. & MEDRANO, P. 2004. Microencapsulación de jugo de cebada verde, mediante secado por aspersion. Ciencia y Tecnología Alimentaria. 4: 262-266.

GEANKOPLIS, C., 1998. Procesos de Transporte y Operaciones Unitarias. México, Continental.

GENTILE, C., TESORIERE, L., ALLEGRA, M., LIVREA, M. & 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., 2003. Origin of the Color of Cv. Rhapsody in Blue Rose and Some Other So-called "Blue" Roses. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 51 :4990-4994.

GROTEWOLD, E. 2006. The Genetics and Biochemistry of Floral Pigments. *Annual Review of Plant Biology*. 57 :761–80

GUTIÉRREZ, C. 2009. Recopilación de Estudios sobre Nichos de Mercados Frutícolas. CATTIE. INTERNET <http://www.frutal-es.com>

HENNIGER G., 1997. Methods of enzymatic bioanalysis and food analysis. Introduction into procedures of enzymatic analysis. Materials from seminar on "The enzymatic methods of food analysis", Boehringer Mannheim Biochemica, p. 123.

HENRY, B. 1996. Natural food colours. Natural food colorants, Hendry G.A.F & Houghton J.D., 2 ed. Chapman and Hall, England.

HERBACH, K., MAIER, C., STINTZING, F. & 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.

HERBACH, K., STINTZING, F. & 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., STINTZING, F. & CARLE, R. 2006a. Betalain stability and degradation-structural and chromatic aspects. *Journal of Food Science*. 71: 41-50.

HERBACH, K., STINTZING, F. & CARLE, R. 2006b. Stability and color changes of thermally treated betanine, phyllocactin and hylocerenin solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54: 390-398

HERNANDEZ, H. 1996. Identificación de pigmentos en cultivos de suspensión de pitaya (*Stanocereus queretaroensis*). Tesis Lic. Universidad Autónoma de Cuxcatlán, Facultad de Química. Cuxcatlán.

HUNTERLAB, 2001. Universal Software Version 4.0 and Above User's Manual. Hunter Associates Laboratory. Virginia, USA.

KAUR, C. & KAPOOR, H. 2001 Antioxidants in fruits and vegetables – The millennium's health, International Journal of Food Science & Technology. 36(7): 703–725.

KANNER, J., HAREL, S. & GRANIT, R. 2001. Betalains- a new class of dietary cationized antioxidants. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 49: 5178-5185.

KIRSTEN, M., STINTZING, F & CARLE, R. 2006. Stability and Color Changes of Thermally Treated Betanin, Phyllocactin, and Hylocerenin Solutions, Journal of Agricultural and Food Chemistry. 54: 2.

KUMPULAINEN, J. & SALONEN, T. 1996. Natural Antioxidants and Food Quality in Atherosclerosis and Cancer Prevention. The Royal Society of Chemistry, Cambridge. 76: 560-568

LAWLESS H. & HEYMANN, H., 1999. Sensory Evaluation of food: Principles and practices. Aspen Published Co., USA.

LE BELLEC, F., VAILLANT, F. & IMBERT, E. 2006. Pitaya (*Hylocereus* spp.): a new fruit crop, a market with a future. Fruits. 61: 4.

LEATHERS, R., DAVIN, C. & ZRYD, J., 1992. Betalain producing cell cultures of beta vulgaris l. var vikores monogerm (red beet). In vitro cell. Developmental Biology. 28: 39-45

LOKSUWAN, J. 2007. Characteristics of microencapsulated b-carotene formed by spray drying with modified tapioca starch, native tapioca starch and maltodextrin. Food Hydrocolloids. 21: 928–935.

LUCAS, C., HALLAGAN, J. & TAYLOR, S. 2001. The role of natural colour additives in food allergy. Advances in Food and Nutrition Research. 43: 195-216

LOZANO, B. 2009. Obtención de microencapsulados funcionales de zumo de *Opuntia stricta* mediante secado por atomización. Universidad Politécnica de Cartagena. España.

MANDUJANO, R. 2006 Estudio preliminar de los pigmentos presentes en cáscara de pitaya (*Stanocereus stellatus*) de la región mixteca. Tesis en Ingeniería de Alimentos. Universidad Tecnológica de la Mixteca, Oaxaca.

MIZRAHI, Y., NERD, A. & NOBEL, P. 1997. Cacti as crops. *Horticultural Reviews* 18: 291-320.

MIZRAHI, Y. & NERD, A. 1999. Climbing and columnar cacti: new arid land fruit crops. Janick, J. (Eds.). *Perspectives on new crops and new uses*. ASHS Press, Alexandria. p. 358-366.

MORENO, D., GARCÍA, C., GIL, J. & GIL, A. 2008. Betalains in the era of global agri-food science, technology and nutritional health. *Phytochemistry Reviews Fundamentals and Perspectives of Natural Products Research*. 7: 261–280.

MOßHAMMER, M., STINTZING, F & CARLE, R. 2006. Evaluation of different methods for the production of juice concentrates and fruit powders from cactus pear. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 7: 275–287.

MOßHAMMER, M., STINTZING, F. & CARLE, R., 2005. Development of a process for the production of a betalain-based colouring foodstuff from cactus pear. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 6: 221– 231.

NIELSEN, B., & ROLFGARD, J. 1996. Freeze Drying The Most Advanced Food Preservation Method. *Food Technology Europe*. 3: 3-9.

NYA. 2005. Health update. *Cancer Causes Control*. NATIONAL YOGURT ASSOCIATION. INTERNET: www.aboutyogurt.com

OBÓN, J., CASTELLAR, M., ALACID, M. & FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. 2008. Production of a red–purple food colorant from *Opuntia stricta* fruits by spray drying and its application in food model systems. *Journal of Food Engineering*. 90(4): 471-479.

- O'MAHONY, M. & ANGULO, O. 2009. Aplicación del modelo de Thurstone a las pruebas sensoriales de diferencia. Archivos latinoamericanos de nutrición. 59: 349-357
- PASCH, J. & VON ELBE, J. 1979. Betanine stability in buffered solutions containing organic acids, metal cations, antioxidants, or sequestrants. Journal of Food Science. 44: 72-74.
- POTTER, N. & HOTCHKISS, J. 1999. Ciencia de los alimentos. 5a ed. Acribia. Zaragoza.
- PSZCZOLA, D. 2002. Natural colors: pigments of imagination. Food Technology. 52: 70-82
- RAVEH. E., NERD, A., & MIZRAHI, Y. 1998. Responses of two hemiepiphytic fruit-crop cacti to different degrees of shade. Scientia Horticulturae. 73: 2-3.
- REYNOSO, R., GARCIA, F., MORALES, D. & GONZÁLEZ, E. 1997. Stability of betalain pigments from a cactaceae fruit. Journal of Agricultural and Food Chemistry 45: 2884-2889.
- RODRÍGUEZ, G., GONZÁLEZ, R., GRAJALES, A. & RUIZ, M. 2005. Spray-Drying of Cactus Pear Juice (*Opuntia streptacantha*): Effect on the Physicochemical Properties of Powder and Reconstituted Product. Drying Technology. 23: 955-973.
- RODRÍGUEZ P. 1985. Las betalaínas como colorantes naturales en alimentos. Revista de la Industria Alimentaria. 7: 4.
- ROESSLER, E. PANGBORN, R. SIDEL, J. STONE, H. 1978. Expanded statistical tables for estimating significance in paired-preference, paired-difference, duo-trio and triangle test. Journal of Food Science. 43: 943-943
- ROUSTAPOUR, O., HOSSEINALIPOUR, M. & GHOBADIAN, B. 2006. An Experimental Investigation of Lime Juice Drying in a Pilot Plant Spray Dryer. Drying Technology. 24: 181-188.
- SANTOS, M., VELÁSQUEZ, Y. & GONZÁLEZ, M. 2005. PRODUCCIÓN DE PIGMENTOS POR CALLOS DE *Mammillaria candida* SCHEIDWEILER (CACTACEAE). Agrociencia. 39: 619-626

- SCHLIEMANN, W. & STRACK, D. 1998. Intramolecular stabilization of acylated betacyanins. *Phytochemistry*. 49: 585-588.
- SCHWARTZ, S., VON ELBE, J., PARIZA, M., GOLDWORTHY, T. & PITOT, H. 1983. Inability of red beet betalain pigments to initiate or promote hepatocarcinogenesis. *Food Chemistry and Toxicology*. 21: 531-535
- SCHWEIGGERT, R.; VILLALOBOS, M.; ESQUIVEL, P. & CARLE, R. 2009. Development and optimization of low temperature enzyme-assisted licuefaction for the production of colouring foodstuff from purple pitaya (*Hylocereus* sp. [Weber] Britton & Rose). *European food research and technology*. 230: 269-280.
- SHANDA, J. 2007. *Colorimetry: Understanding the CIE System*. John Wiley & Sons Inc., USA
- STINTZING, F. & CARLE, R. 2004. Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. *Trends in Food Science & Technology*. 15:19–38
- STINTZING, F. & CARLE, R. 2007. Betalains. En: Socaciu, C. *Food Colorants: Chemical and Functional Properties*. CRC Press, USA.
- STINTZING, F., HERBACH, K., MOßHAMMER M., CARLE, R., YI, W., SELLAPPAN, S., AKOH, C.C., BUNCH, R. & FELKER, P. 2005. Color, betalain pattern and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia* ssp.) clones. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 442-451.
- STINTZING, F., 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., 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 Reserch Technology*, 216: 303–311.

- STONE, H. & SIDEL, J.L. 2004. Sensory Evaluation Practice. 3 ed. Elsevier Academic Press. San Diego, California.
- STRACK., D., VOGT, T., SCHLIEMANN, W. 2003. Recent advances in betalain research. *Phytochemistry*. 62: 247- 269.
- VAILLANT, F., PÉREZ, A., DAVILA, I., DORNIER, M. & REYNES, M. 2005. Colorant and antioxidant properties of red-purple pitaya (*Hylocereus* sp.) *Fruits*. 60: 1-10
- VILLORIA, A., CORBELLI, D., MORENO, M., & BELÉN D. 2002. Estabilidad de betalaínas en pulpa de tuna (*Opuntia boldinghii* Br. et R.) sometidas a un proceso de liofilización. *Revista de la Facultad de Agronomía*. 19 (4): 324-331.
- WHISTLER, R. & BEMILLER, J. 1997. Carbohydrate chemistry for food scientists. Egan Press. Minnesota.
- WITTIG, E., CURIA, A., CALDERON, S., LÓPEZ, L., FUENZALIDA, R. & HOUGH, G. 2005. Un estudio transcultural de yogurt batido de fresa: aceptabilidad con consumidores versus calidad sensorial con paneles entrenados. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 55: 77-85.
- WYBRANIEC, S. & MIZRAHI, Y. 2002. Fruit Flesh Betacyanin Pigments in *Hylocereus* Cacti. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50 (21): 6086-6089.
- ZEE, F., YEN, C., & NISHINA, M. 2004. Pitaya (pitayafruit, strawberrypear). *Fruits and Nuts*. 9: 1–3.
- ZWILLINGER, D. & KOKOSKA, S. 1999. Standard probability and statistics tables and formulae. Chapman and Hall/ CRC. Boca Ratón.
- ZVITOV, R., SCHWARTZ, A. & NUSSINOVITCH, A. 2007. Comparison of betalain extraction from beet (*beta vulgaris*) by low DC electrical field versus cryogenic freezing. *Journal of texture studies*. 34: 83-94.

Apéndice A. Comparación de la concentración de betalaínas, humedad y color, de los polvos obtenidos a partir de concentrado de pitaya, por los métodos de deshidratación por liofilización y secado por atomización.

Cuadro A1. Mediciones de color para los polvos obtenidos por liofilización y secado atómico

Tratamiento	Réplica	Parámetro				
		L*	a*	b*	C*	h°
Liofilización	1	43,12	35,11	-25,57	43,43	323,93
	2	43,14	35,12	-25,53	43,42	323,99
	3	43,15	35,13	-25,51	43,42	324,01
Secado atómico	1	55,92	33,24	-25,77	42,06	322,21
	2	55,92	33,20	-25,74	42,01	322,21
	3	55,98	33,18	-25,83	42,05	322,10

Cuadro A2. Mediciones de masas y absorbancia a 538 nm para la determinación del % de humedad y la concentración de betalaínas en los polvos liofilizado y secado por aspersión.

Tratamiento	Réplica	Parámetro		
		Masa inicial(gramos)	Masa final (gramos)	Absorbancia
Liofilización	1	2,99	2,80	0,9118
	2	2,98	2,79	0,9117
	3	3,01	2,83	0,9177
Secado atómico	1	2,97	2,77	0,91175
	2	2,93	2,74	0,9155
	3	3,03	2,82	0,9185

Cuadro A3. Áreas bajo la curva del perfil de las betalaínas en los polvos liofilizado y secado por aspersión.

Tratamiento	Réplica	Betalaína				
		Betanina	Isobetanina	Betanidina	Filocactina	Isobetanidina
Liofilización	1	4076298	2337565	16544460	852053	5141338
	2	4122882	2372065	16791112	858409	5331961
Secado atómico	1	4078730	2026596	17057451	913490	5103602
	2	4076298	2337565	16544460	852053	5141338

Cuadro A4. Absorbancia medida para el cálculo del ácido ascórbico por el método enzimático utilizado

Tratamiento	Réplica	Absorbancia			
		Muestra 1	Blanco 1	Muestra 2	Blanco 2
Liofilización	1	0,320	0,320	0,373	0,326
	2	0,313	0,329	0,366	0,338
Atomización	1	0,311	0,335	0,376	0,343
	2	0,324	0,319	0,386	0,327

Cuadro A5. Absorbancia medida a diferentes longitudes de onda para los polvos obtenidos por liofilización y secado atómico

Tratamiento	Réplica	Longitud de onda (nm)						
		340	350	360	420	440	450	460
Liofilización	1	1,321	1,235	1,170	0,962	0,965	0,981	1,461
	2	1,332	1,258	1,202	0,961	0,962	1,042	1,579
	3	1,574	1,306	1,390	0,967	0,966	1,188	2,095
Secado atómico	1	1,315	1,230	1,167	0,980	0,987	1,006	1,494
	2	1,322	1,246	1,193	1,025	1,037	1,059	1,602
	3	1,559	1,455	1,378	1,136	1,162	1,202	1,212

Cuadro A6. Parámetros de color obtenidos durante el estudio de almacenamiento según cada método de secado.

Método de secado	Tiempo de almacenamiento (días)	Parámetro				
		L*	a*	b*	C*	h°
Liofilizado	1	84,69	8,83	2,61	9,208	16,467
Liofilizado	1	84,67	8,94	2,62	9,316	16,334
Liofilizado	1	84,72	8,81	2,56	9,174	16,203
Atomización	1	84,62	9,51	3,05	9,987	17,782
Atomización	1	84,54	9,45	3,11	9,949	18,216
Atomización	1	84,54	9,46	3,10	9,955	18,144
Liofilizado	3	86,04	8,76	1,05	8,823	6,835
Liofilizado	3	86,07	8,7	1,07	8,766	7,012
Liofilizado	3	86,05	8,74	1,03	8,800	6,721
Atomización	3	86,22	8,54	1,27	8,634	8,459
Atomización	3	86,21	8,52	1,25	8,611	8,347
Atomización	3	86,21	8,54	1,26	8,632	8,393
Liofilizado	5	85,29	8,19	0,72	8,222	5,024
Liofilizado	5	85,22	8,22	0,68	8,248	4,729
Liofilizado	5	85,15	8,22	0,75	8,254	5,213
Atomización	5	85,83	7,23	1,02	7,302	8,030
Atomización	5	85,97	6,96	1,14	7,053	9,302
Atomización	5	85,65	7,63	0,69	7,661	5,167

Cuadro A6 (Continuación). Parámetros de color obtenidos durante el estudio de almacenamiento según cada método de secado.

Método de secado	Tiempo de almacenamiento (días)	Parámetro				
		L*	a*	b*	C*	h°
Liofilizado	8	85,67	8,7	1,54	8,835	10,038
Liofilizado	8	85,69	8,7	1,53	8,834	9,974
Liofilizado	8	85,7	8,66	1,48	8,786	9,698
Atomización	8	85,84	8,54	1,63	8,694	10,806
Atomización	8	85,88	8,46	1,69	8,627	11,297
Atomización	8	85,83	8,55	1,61	8,700	10,664
Liofilizado	10	85,58	8,37	1,6	8,522	10,822
Liofilizado	10	85,6	8,38	1,58	8,528	10,677
Liofilizado	10	85,67	8,16	1,74	8,343	12,037
Atomización	10	85,93	8,25	1,77	8,438	12,109
Atomización	10	85,93	8,23	1,75	8,414	12,004
Atomización	10	85,94	8,21	1,73	8,390	11,899
Liofilizado	12	85,81	8,26	1,69	8,431	11,563
Liofilizado	12	85,72	8,2	1,63	8,360	11,243
Liofilizado	12	85,72	8,17	1,76	8,357	12,157
Atomización	12	86,04	8,18	1,78	8,371	12,276
Atomización	12	86,1	8,16	1,76	8,348	12,171
Atomización	12	86,13	8,13	1,74	8,314	12,080
Liofilizado	15	85,89	8,23	1,72	8,408	11,804
Liofilizado	15	85,94	8,19	1,89	8,405	12,995
Liofilizado	15	85,86	8,16	1,86	8,369	12,841
Atomización	15	86,13	8,06	1,79	8,256	12,521
Atomización	15	86,21	8,03	1,77	8,223	12,431
Atomización	15	86,18	8,13	1,75	8,316	12,148

Apéndice B. T student para la comparación de los parámetros estudiados para ambos tipos de polvos.

Cuadro B1. T student para la comparación de L* de los polvos liofilizado y secado por atomización

	Liofilizado	Atomizado
Media	43,1366667	55,94
Varianza	0,00023333	0,0012
Observaciones	3	3
Varianza agrupada	0,00071667	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	-585,747009	
P(T<=t) dos colas	5,0969 x 10 ⁻¹¹	
Valor crítico de t (dos colas)	2,77644511	

Cuadro B2. T student para la comparación de a* de los polvos liofilizado y secado por atomización

	Liofilizado	Atomizado
Media	35,12	33,2066667
Varianza	0,0001	0,00093333
Observaciones	3	3
Varianza agrupada	0,00051667	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	103,093443	
P(T<=t) dos colas	5,3083x 10 ⁻⁰⁸	
Valor crítico de t (dos colas)	2,77644511	

Cuadro B3. T student para la comparación de b* de los polvos liofilizado y secado por atomización

	Liofilizado	Atomizado
Media	-25,53666667	-25,78
Varianza	0,000933333	0,0021
Observaciones	3	3
Varianza agrupada	0,001516667	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	7,652479308	
P(T<=t) dos colas	0,001566934	
Valor crítico de t (dos colas)	2,776445105	

Cuadro B4. T student para la comparación de C* de los polvos liofilizado y secado por atomización

	Liofilizado	Atomizado
Media	1313,282	1103,11667
Varianza	0,020736	0,03416233
Observaciones	3	3
Varianza agrupada	0,02744917	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	1553,61043	
P(T<=t) dos colas	1,0299 x10 ⁻¹²	
Valor crítico de t (dos colas)	2,77644511	

Cuadro B5. T student para la comparación de h° de los polvos liofilizado y secado por atomización

	Liofilizado	Atomizado
Media	323,97813	322,176027
Varianza	0,00161976	0,00434447
Observaciones	3	3
Varianza agrupada	0,00298211	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	40,4169432	
P(T<=t) dos colas	2,2394 x10 ⁻⁰⁶	
Valor crítico de t (dos colas)	2,77644511	

Cuadro B6. T student para la comparación de ΔE de los polvos liofilizado y secado por atomización

	Liofilizado	Atomizado
Media	3,02033333	0,161
Varianza	9,0333E-05	0,002413
Observaciones	3	3
Varianza agrupada	0,00125167	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	98,9842447	
P(T<=t) dos colas	6,2458 x10 ⁻⁰⁸	
Valor crítico de t (dos colas)	2,77644511	

Cuadro B7. T student para la comparación de la concentración de betalaínas de los polvos liofilizado y secado por atomización

	Liofilizado	Atomizado
Media	128,88	108,65
Varianza	0,04922549	0,00033135
Observaciones	3	3
Varianza agrupada	0,02477842	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	157,413125	
P(T<=t) dos colas	9,7695 x10 ⁻⁰⁹	
Valor crítico de t (dos colas)	2,77644511	

Cuadro B8. T student para la comparación del % de humedad de los polvos liofilizado y secado por atomización

	Liofilizado	Atomizado
Media	6,32	6,70
Varianza	0,03323333	0,01823333
Observaciones	3	3
Varianza agrupada	0,02573333	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	-2,90122361	
P(T<=t) dos colas	0,04406386	
Valor crítico de t (dos colas)	2,77644511	

Apéndice C. Mediciones Sensoriales para los diferentes análisis realizados

Cuadro C1. Resultados de la prueba de diferencia, entre diversas concentraciones de polvo colorante y la concentración de 0,28%, con un total de 18 jueces.

Aciertos	Probabilidad	Resultado	Diferencia entre 0,28 y la cn usada (%)
14	0,015	Significativo	0,05
16	0,001	Significativo	0,02
16	0,001	Significativo	0,03
17	≤0,001	Significativo	0,06
18	≤0,001	Significativo	0,09

Cuadro C2. Medición de parámetros de color en dos concentraciones donde los panelistas detectaron la mínima diferencia entre ellas.

Réplica	Concentración de polvo colorante	L*	a*	b*
1	0,30%	83,15	9,82	3,33
2		83,12	9,94	3,41
3		83,05	9,75	3,52
1	0,28%	84,72	9,51	3,05
2		84,54	9,45	3,15
3		84,36	9,69	3,19