



*Instituto Tecnológico Superior de Acatlán de Osorio*

**SEP**

**SEIT**

**TecNM**

**DIVISIÓN DE LA CARRERA DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**OPCIÓN**

*“Tesis”*

**Proyecto**

**“Caracterización funcional antioxidante y fisicoquímica  
del jugo fermentado y sin fermentar de pitaya de mayo  
*Stenocereus griseus*”**

**Que para obtener el título de:**

*Ingeniero en Industrias Alimentarias*

**Presenta**

*Alma Delia Noriega Juárez*

**170812019**

**Acatlán de Osorio, Pue., a 14 de diciembre de 2021**

## AGRADECIMIENTOS

A **Dios** por darme la oportunidad de vivir, de estar en donde estoy ahora, además por todo el aprendizaje que me ha permitido obtener, guiándome en el camino con grandes experiencias y bendiciones.

A los mejores padres **Esperanza y Maurino**, que Dios me ha dado, gracias por el gran apoyo que me han brindado para continuar mis estudios, su confianza, amor, comprensión, son el gran motor que me mueven para lograr nuestras metas.

Al **Instituto Tecnológico Superior De Acatlán De Osorio**, por la oportunidad que me brindaron para formarme como profesional.

A la **Universidad Tecnológica De La Mixteca**, por el espacio brindado, en el Instituto de Agroindustrias, para el desarrollo de mi tesis profesional.

A la **M.I.A. Anabel Romero Cruz** por su experiencia, consejos, apoyo, acompañamiento y confianza para el desarrollo de este proyecto.

Al **Dr. Raúl Salas Coronado**, por brindarme todo su apoyo para lograr el desarrollo del presente trabajo, mil gracias por transmitirme su conocimiento e interés por la investigación además de abrirme las puertas de la Universidad Tecnológica de la Mixteca.

A la **M.C. Víctor Pacheco Contreras** por su conocimiento y apoyo otorgados durante la carrera y la revisión del presente trabajo.

A mis **MAESTROS** de todos los niveles educativos por su grandes consejos y motivación para guiarme en mi formación académica, por su tiempo, paciencia y entrega en su admirable labor.

A mis compañeros de laboratorio **Juan Carlos, Yareli y Angélica** por sus consejos y recomendaciones en el uso de los equipos.

## DEDICATORIAS

A mis padres **Esperanza y Maurino** por su apoyo incondicional, sus palabras de aliento, aconsejarme, motivarme a seguir adelante con mis metas, darme fuerza en los momentos difíciles, por creer en mí y ser mi mayor ejemplo de constancia y perseverancia.

A mi abuelita **Josefina**, por sus oraciones y bendiciones, por estar siempre al pendiente de mi a pesar de la distancia, te quiero mucho, gracias.

A mi abuelito **Mauro** <sup>(+)</sup>, por sus bendiciones desde el cielo, iniciamos este sueño juntos sin embargo el destino, no, nos permitió terminarlo, físicamente no estás, pero en mi corazón siempre permaneces, a ti te dedico todos mis logros, te extraño.

A mis hermanos **Marco, Edwin, Ángeles y Marlene**, por su paciencia y comprensión en los momentos difíciles, así como por su apoyo estando a mi lado haciéndome reír, los quiero mucho.

Al Lic. **Alejandro Villanueva** y toda su familia, la Lic. **Bere, Junior y Aliss**, Doña **Carmen**, Doña **Cipri, Miguel, Lili**, la pequeña **Danna** y todos los que me faltan por enlistar, por ser el ejemplo más grande, que lo que hace familia, no siempre es la sangre, es la fortaleza de un vínculo que se cuida y se respeta cada día, como un tesoro inmensamente valioso, y ustedes son mi familia, por estar en los momentos más difíciles, cuando esto no parecía tener fin, por sus consejos y cariño sincero, por compartir momentos felices y todo el apoyo que me han otorgado, son unas grandísimas personas, doy gracias a Dios por conocerlos.

A mis profesoras, **Elena Mendoza, Verónica Sánchez, Natalia Vásquez, Anayeli Marín y Anabel Romero**, que marcaron mi trayectoria escolar, me ayudaron a descubrirme a mí misma y a enseñarme a superar cada obstáculo, sus consejos y palabras de motivación nunca las olvido, siempre han estado presentes para lograr mis objetivos.

A mis compañeros de todos estos años, que más que eso, se volvieron mis amigos, todas las anécdotas y retos que superamos juntos, entre risas y enojos, **Jessi, Gris, Deysi, Isaac, Martínez, Iván, Miguis, Pilar, Diego, Sam, Karla, Sánchez, Iri, Sayu, Cintia, Bere, Liz, Vane, Zaira, Edu, Lupe, Ismael, Lalo, Emma, Ing. Itzel**, gracias por acompañarme a través de este tiempo, por su confianza, apoyo y cariño sinceros.

A los profesores **Gregorio Pérez** y **Angela Vásquez**, por sus palabras de aliento y consejos en esta última etapa de mi carrera, gracias por sus atenciones y platicarme sus experiencias, para recordarme que siempre que se quiere, se pueden lograr los sueños, con base a trabajo y esfuerzo.

Este nuevo logro es gracias a todos los anteriormente enlistados, y a muchas más personas que han estado conmigo directa o indirectamente, he logrado concluir con éxito un proyecto que parecía difícil en un principio, sin embargo, todo con base a disciplina y constancia se logra, somos el resultado de lo que hacemos repetidamente.

## ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS.....	II
DEDICATORIAS.....	III
ÍNDICE GENERAL.....	V
ÍNDICE DE FIGURAS .....	VIII
ÍNDICE DE TABLAS.....	IX
LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS .....	XI
RESUMEN.....	XII
ABSTRACT.....	XIII
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS E HIPÓTESIS .....	3
2.1 OBJETIVO GENERAL.....	3
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	3
2.3 HIPÓTESIS.....	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
3.1 PITAYA.....	4
3.1.1 Clasificación taxonómica de la pitaya.....	4
3.1.2 Características generales de la variedad <i>Stenocereus griseus</i> .....	7
3.1.3 Composición química de la pitaya .....	7
3.1.4 Producción de pitaya .....	9
3.1.5 Usos de la pitaya.....	11
3.2 VINO DE FRUTAS .....	11
3.2.1 Concepto.....	11
3.2.2 Factores a controlar en el proceso de elaboración del vino de frutas.....	12
3.3 PROPIEDADES FUNCIONALES EN VINO DE FRUTAS.....	21
3.3.1 Capacidad antioxidante.....	21
3.3.2 Método de poder reductor férrico FRAP.....	23
3.3.3 Fenoles totales .....	24
3.3.4 Método de Folin Ciocalteu .....	27
3.3.5 Flavonoides.....	28
3.3.7 Método del pH diferencial.....	31
3.3.8 Betalaínas .....	33

3.3.9	Determinación de betalainas totales por espectrofotometría.....	35
3.4	FERMENTACIÓN EN VINO DE FRUTAS .....	36
3.4.1	Fermentación alcohólica.....	36
3.5	LEVADURAS UTILIZADAS EN VINO DE FRUTAS .....	37
3.5.1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	37
3.6	FACTORES PARA EL CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE LA LEVADURA .....	38
3.6.1	Presión osmótica.....	38
3.6.2	Temperatura.....	38
3.6.3	Desecación.....	39
3.6.4	Luz.....	39
3.6.5	pH.....	39
3.6.6	Alcohol .....	39
	ORIGINALIDAD.....	40
	MATERIALES Y MÉTODOS.....	41
5.1	LOCALIZACIÓN DEL LUGAR EXPERIMENTAL .....	41
5.2	OBTENCIÓN DE LA MATERIA PRIMA .....	41
5.3	ELABORACIÓN DEL VINO DE PITAYA .....	42
5.3.1	Elaboración del biorreactor .....	42
5.3.2	Recepción de la materia prima .....	43
5.3.3	Extracción de la pulpa .....	44
5.3.4	Conservación de la materia prima .....	44
5.3.5	Maceración .....	45
5.3.6	Fermentación alcohólica.....	46
5.3.7	Descube .....	47
5.3.8	Trasiego .....	47
5.3.9	Envasado.....	48
5.3.10	Almacenamiento.....	48
5.4	DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS SOLUBLES .....	48
5.5	DETERMINACIÓN DE PH.....	48
5.6	ACIDEZ TITULABLE.....	49
5.6.1	Preparación de hidróxido de sodio al 0.1 N .....	49
5.6.2	Determinación de la acidez titulable .....	49
5.7	DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE .....	50
5.7.1	Extracción de la muestra.....	50
5.7.2	Preparación del reactivo FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) .....	50
5.7.3	Preparación de la curva de calibración .....	51
5.7.4	Aplicación del método FRAP.....	52
5.8	DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES.....	53
5.8.1	Preparación de disoluciones .....	53

5.8.2	Disolución patrón de ácido gálico de 100 µg/mL .....	53
5.8.3	Extracción de los compuestos fenólicos .....	53
5.8.4	Reacción colorimétrica .....	54
5.9	DETERMINACIÓN DE ANTOCIANINAS .....	55
5.9.1	Preparación del extracto .....	55
5.9.2	Cuantificación de antocianinas monoméricas totales por el método de pH diferencial .....	55
5.9.3	Extracción y cuantificación de betalaínas .....	56
5.10	DETERMINACIÓN DEL GRADO ALCOHÓLICO .....	58
5.11	ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	58
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....		59
6.1	CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LA PITAYA DE MAYO .....	59
6.2	RENDIMIENTO DE LA PULPA DE PITAYA DE MAYO .....	60
6.3	CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL JUGO DE PITAYA .....	60
6.4	RENDIMIENTO DEL VINO DE PITAYA DE MAYO .....	61
6.5	CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL VINO JOVEN DE PITAYA .....	62
6.5.1	pH .....	62
6.5.2	Acidez titulable .....	65
6.5.3	Sólidos solubles .....	67
6.5.4	Temperatura de fermentación .....	70
6.5.5	Grado alcohólico .....	72
6.6	CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DEL JUGO Y DEL VINO DE PITAYA DE MAYO .....	73
6.6.1	Capacidad antioxidante .....	73
6.6.2	Contenido de fenoles solubles totales .....	75
6.6.3	Determinación de antocianinas .....	78
6.6.4	Cuantificación de betalaínas .....	80
6.7	RESULTADOS DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	82
CONCLUSIONES .....		84
RECOMENDACIONES .....		86
BIBLIOGRAFIA .....		87
APÉNDICES .....		94

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Reducción de 2,4,6-tripiridil-triazina férrica (TPTZ).....	23
Figura 2. Estructura química del fenol.....	25
Figura 3. Estructuras químicas de compuestos fenólicos simples. ....	25
Figura 4. Mecanismo de acción del reactivo de Folin Ciocalteau. ....	27
Figura 5. Ácido gálico.....	28
Figura 6. Estructura química de los flavonoides.....	29
Figura 7. Estructura de las antocianinas.....	30
Figura 8. Estructura de algunas antocianinas.....	31
Figura 9. Reacción de las antocianinas para formar antocianinas-sulfónicas incoloras. ....	32
Figura 10. Estructura química del ácido betalámico. ....	34
Figura 11. Estructura química de los subgrupos de las betalaínas. ....	35
Figura 12. Comportamiento del pH con respecto al tiempo.....	63
Figura 13. Comportamiento de la acidez titulable con respecto al tiempo.....	66
Figura 14. Comportamiento de los de los sólidos solubles con respecto al tiempo. ....	68
Figura 15. Comportamiento de la temperatura con respecto al tiempo.....	70

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica de las principales especies de pitayas. ....	6
Tabla 2. Propiedades químicas de la pulpa de cuatro variedades de <i>S. griseus</i> . ....	8
Tabla 3. Composición porcentual en base seca de la cáscara, pulpa y semilla de <i>S. griseus</i> . ...	9
Tabla 4. Análisis químico del jugo extraído de <i>S. stellatus</i> y <i>S. griseus</i> . ....	9
Tabla 5. Canales de comercialización, distribución y precios de la pitaya. ....	10
Tabla 6. Valor del pH de diferentes vinos de frutas .....	15
Tabla 7. °Brix de diferentes vinos de frutas .....	16
Tabla 8. Valor de la acidez total de diferentes vinos de frutas .....	18
Tabla 9. Tiempo y temperatura para la fermentación de diferentes vinos de frutas.....	20
Tabla 10. Clasificación general de bebidas alcohólicas .....	20
Tabla 11. Grados de alcohol de diferentes vinos de frutas .....	21
Tabla 12. Concentraciones de Trolox para FRAP .....	51
Tabla 13. Características físicas de la pitaya de mayo <i>Stenocereus griseus</i> . ....	59
Tabla 14. Porcentaje de rendimiento de la pulpa de pitaya de mayo <i>S. griseus</i> . ....	60
Tabla 15. Propiedades químicas del jugo de dos variedades de <i>S. griseus</i> . ....	61
Tabla 16. Análisis de varianza, comparación de medias en el pH .....	64
Tabla 17. Análisis de varianza, comparación de medias en el % de acidez. ....	67
Tabla 18. Análisis de varianza, comparación de medias en los sólidos solubles .....	69
Tabla 19. Análisis de varianza, comparación de medias del monitoreo de temperatura.....	71
Tabla 20. Análisis de varianza, comparación de medias en el porcentaje de alcohol. ....	73
Tabla 21. Capacidad antioxidante (mg eq de Trolox /100 g de masa seca de jugo de pitaya) en el jugo y vino de dos variedades de pitaya de mayo <i>S. griseus</i> . ....	74
Tabla 22. Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales, en el porcentaje de retención de la capacidad antioxidante. ....	75
Tabla 23. Contenido de fenoles totales (mg EAG /100 g de masa seca de jugo de pitaya) en el jugo y vino de dos variedades de pitaya de mayo <i>S. griseus</i> . ....	75
Tabla 24. Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales, en el porcentaje de retención del contenido de fenoles totales. ....	76

Tabla 25. Contenido (en mg de cianidina 3-glucósido/100 g de masa seca de jugo de pitaya) de antocianinas totales en el jugo y vino de dos variedades de pitaya de mayo <i>S. griseus</i> .....	78
Tabla 26. Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales, en el porcentaje de retención del contenido de antocianinas monoméricas totales. ....	79
Tabla 27. Contenido (en mg/100 g de masa seca de jugo de pitaya) de betalaínas totales, betacianinas y betaxantinas en el jugo y vino de dos variedades de pitaya de mayo .....	80
Tabla 28. Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales, en el porcentaje de retención del contenido de betalaínas totales. ....	82
Tabla 29. Correlación de Pearson en relación de los compuestos bioactivos .....	83
Tabla 30. Diluciones de ácido gálico.....	100
Tabla 31. Comparación de medias en la capacidad antioxidante de los jugos .....	105
Tabla 32. Comparación de medias en la capacidad antioxidante de los vinos. ....	105
Tabla 33. Comparación de medias en el contenido de betalaínas de los jugos. ....	105
Tabla 34. Comparación de medias en el contenido de betalaínas de los vinos. ....	106
Tabla 35. Comparación de medias en el contenido de antocianinas de los jugos. ....	106
Tabla 36. Comparación de medias en el contenido de antocianinas de los vinos. ....	106
Tabla 37. Comparación de medias en el contenido de fenoles totales de los jugos. ....	107
Tabla 38. Comparación de medias en el contenido de fenoles totales de los vinos. ....	107

## LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

<b>AOAC</b>	Association of Analytical Communities
<b>°C</b>	Grados Celsius
<b>CuSO<sub>4</sub></b>	Sulfato de Cobre
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dióxido de Carbono
<b>EtOH</b>	Etanol
<b>FRAP</b>	Ferric Reducing Antioxidant Power
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	Ácido Sulfúrico
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Agua
<b>HCl</b>	Ácido Clorhídrico
<b>mM</b>	Milimolar
<b>N</b>	Normalidad
<b>μL</b>	Microlitros
<b>NaNO<sub>2</sub></b>	Nitrito de Sodio
<b>nm</b>	Nanómetros
<b>NaOH</b>	Hidróxido de Sodio
<b>pH</b>	Potencial de Hidrógeno

## RESUMEN

La pitaya de mayo *Stenocereus griseus* es un fruto de una cactácea columnar que contiene betalaínas, compuestos nitrogenados hidrosolubles, además, proteínas, fibra, ácido ascórbico y compuestos fenólicos que le confieren capacidad antioxidante. Debido a la importancia del aprovechamiento de los compuestos bioactivos y a la necesidad de transformar la pitaya en nuevos productos que le otorguen mayor durabilidad y disponibilidad durante todo el año, en el presente estudio se obtuvieron dos vinos a partir de los jugos fermentados de dos variedades de pitaya de mayo *Stenocereus griseus* de la región de Xayacatlán De Bravo, Puebla. En el proceso de fermentación se controló la temperatura a  $27 \pm 1.5$ , se utilizó la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, marca RED STAR en una relación de 250 mg/L, a un pH de  $3 \pm 0.5$  y acidez del  $0.55 \pm 0.5\%$  en miliequivalentes de ácido cítrico, se corrigió el mosto a  $21^\circ$  Brix. Se evaluaron las propiedades fisicoquímicas de acuerdo a lo descrito por la AOAC (association of analytical communities), las propiedades funcionales, tal como la capacidad antioxidante por el método FRAP (ferric reducing antioxidant power), fenoles totales por el método de Folin Ciocalteu, antocianinas totales con el método del pH diferencial. También se cuantificó el contenido de betalaínas, tanto al jugo natural y al vino de los dos tratamientos. Los resultados mostraron mayor capacidad antioxidante en el vino de color rojo  $350.47 \pm 0.86$  mg eq de Trolox/100 g de masa seca de jugo de pitaya, mayor concentración de fenoles totales en el vino de color rojo  $444.5 \pm 8.45$  mg EAG /100 g de masa seca de jugo de pitaya, mayor presencia de antocianinas  $55.17 \pm 0.56$  mg de cianidina 3-glucósido/100 g de masa seca de jugo de pitaya, betalaínas  $919.07 \pm 0.05$  mg/100 g de masa seca de jugo de pitaya en la misma variedad roja, las características fisicoquímicas no presentaron diferencias significativas entre ambos tratamientos teniendo resultados finales de acidez total en  $0.55 \pm 0.5\%$  en equivalentes de ácido cítrico, pH de  $3 \pm 0.5$ , sólidos solubles de  $6 \pm 0.5^\circ$  Brix y un volumen de alcohol del  $12 \pm 0.5\%$ .

**Palabras clave:** *Stenocereus griseus*, fermentación, capacidad antioxidante, fenoles totales, *Saccharomyces Cerevisiae*.

## ABSTRACT

The pitaya of may month (*Stenocereus griseus*) is a fruit from columnar cactus that contains betalains, water-soluble nitrogenous compounds, in addition, proteins, fiber, ascorbic acid and phenolic compounds that confer to it antioxidant capacity. Due to bioactive compounds importance and need to transform pitaya into new products that give it greater durability and availability all time; in the present study, two wines were obtained from the fermented juices of two varieties of pitaya of may month from Xayacatlán de Bravo region, Puebla. The fermentation process was carried under conditions of temperature controlled ( $27 \pm 1.5$  °C), as well the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, RED STAR brand was used in a ratio of 250 mg/L, at a pH of  $3 \pm 0.5$  and acidity of  $0.55 \pm 0.5\%$  in equivalents of citric acid. The soluble solids of pitaya must was adjusted to 21 °Brix. The physicochemical properties were evaluated according to what was described by the AOAC (association of analytical communities). The functional properties, such as the antioxidant capacity by the FRAP method (ferric reducing antioxidant power), total phenols by the Folin Ciocalteau method, anthocyanins with the differential pH method, and the content of betalains was quantified, both in natural juice and to wine from two treatments. The results showed greater antioxidant capacity in the red wine  $350.47 \pm 0.86$  mg eq of Trolox/100 g of dry mass of pitaya juice, higher concentration of total phenols in the red wine  $444.5 \pm 8.45$  mg EAG/100 g of dry mass of pitaya juice, greater content of anthocyanins  $55.17 \pm 0.56$  mg of cyanidin 3-glucoside/100 g of dry mass pitaya juice, betalains  $919.07 \pm 0.05$  mg /100 g of dry mass pitaya juice in the same red variety. The physicochemical characteristics did not has significant differences between both treatments. The final results of total acidity was  $0.55 \pm 0.5\%$  equivalents of citric acid, pH of  $3 \pm 0.5$ , soluble solids of  $6 \pm 0.5$  °Brix and an alcohol volume of  $12 \pm 0.5\%$ .

**Keywords:** *Stenocereus griseus*, fermentation, antioxidant capacity, total phenols, *Saccharomyces cerevisiae*.

## INTRODUCCIÓN

La Mixteca Oaxaqueña se caracteriza por ser una región árida que permite el desarrollo y cultivo de diversas especies de cactáceas, como es el caso del órgano columnar *Stenocereus*. El fruto exótico y delicioso de esta planta es la llamada pitaya que es una baya de mesocarpio de diferentes colores (rojo, amarillo, blanco o rosa), de epicarpio gomoso con espinas y semillas negras. Actualmente este fruto rico en proteínas y fibra, sólo se comercializa y consume de forma fresca en las zonas donde se cultiva y únicamente en las temporadas de cosecha abril-junio y septiembre-octubre. Esto se debe principalmente a que una vez que se le quitan las espinas, los procesos de maduración se desencadenan rápidamente, alcanzando en pocos días su descomposición (González, 2006).

El color característico de sus frutos se debe a las betalaínas, pigmentos naturales hidrosolubles con nitrógeno en su estructura que se sintetizan a partir del aminoácido tirosina. Las betalaínas se dividen en dos grupos, las betacianinas, que brindan tonalidades rojas y se forman por condensación de una estructura ciclo-DOPA (dihidroxifenilalanina) con el ácido betalámico, y las betaxantinas que proporcionan coloraciones amarillas y se sintetizan a partir de diferentes compuestos amino y el ácido betalámico, Strack et al., 2003; Gandía-Herrero et al., 2010, citado por García, (2016).

La demanda alta de alimentos convenientes y variables, que proporcionen beneficios saludables con requerimientos calóricos bajos y concentración alta de compuestos bioactivos, ha generado una fuerte presión en la industria alimentaria. Esto se refleja en la búsqueda de nuevas opciones para mejorar la calidad de alimentos nutritivos. La investigación sobre las características fisicoquímicas y funcionales antioxidantes de una nueva bebida en la región mixteca, como es el caso, el producto de la fermentación del mosto de pitaya con condiciones

estandarizadas y factibles de ser replicadas, denominado vino de pitaya, permitirá generar una nueva opción de comercialización del fruto endémico de la región que facilite la toma de decisiones para la conservación y aprovechamiento de la pitaya de mayo *Stenocereus griseus*, con ello fortalecer la industria de los alimentos. Finalmente, con la presente investigación se contribuirá a obtener información para la comparación de las propiedades nutrimentales como, capacidad antioxidante, fenoles totales, presencia de antocianinas, betalaínas y las características fisicoquímicas como acidez total, pH, sólidos solubles (°Brix) y porcentaje de alcohol (grados Gay Lussac) del jugo natural y el vino de pitaya de mayo, *Stenocereus griseus* de coloración roja y amarilla.

## OBJETIVOS E HIPÓTESIS

### 2.1 Objetivo general

Obtener dos vinos a partir de los jugos fermentados de dos variedades de pitaya de mayo *Stenocereus griseus* de la región de Xayacatlán de Bravo, Puebla.

### 2.2 Objetivos específicos

1. Obtener jugos de frutos de *Stenocereus griseus* rojos y amarillos, y realizar su caracterización fisicoquímica y funcional antioxidante.
2. Obtener vinos a partir de un proceso de fermentación de los jugos de los frutos de *Stenocereus griseus* rojos y amarillos, y realizar su caracterización fisicoquímica y funcional antioxidante.
3. Realizar un análisis comparativo de las características funcionales antioxidantes de los jugos y vinos.

### 2.3 Hipótesis

Los vinos de pitaya *Stenocereus griseus* rojos y amarillos presentan características funcionales antioxidantes sin diferencia entre las variedades y sin cambios significativos con respecto a las propiedades del fruto.

## REVISIÓN DE LITERATURA

En este apartado, se encuentran descritas las características de la materia prima a evaluar, su producción y principales usos, así como los fundamentos para la elaboración de vino de frutas, haciendo referencia a los antecedentes más representativos sobre el proceso.

### 3.1 Pitaya

La pitaya de mayo (*Stenocereus griseus*) es una cactácea columnar que se encuentra en zonas áridas y semiáridas de México. Los frutos de esta cactácea son jugosos y de coloraciones que van desde naranja hasta el púrpura. El color del fruto se debe a las betalaínas, que son compuestos nitrogenados hidrosolubles (García et al., 2012).

La pitaya tiene propiedades nutrimentales atribuidas a la presencia de vitaminas C, B (B1 o tiamina, B3 o niacina y B2 o rivo flavina), potasio, hierro, calcio y fósforo, además de ser bajas en calorías y de ayudar a la digestión por ser ricas en fibra (SIAP, 2017).

La pitaya se consume como producto fresco y no se encontraron estudios sobre la aplicación de este fruto en productos industrializados que permitan su explotación comercial. La obtención de extractos de pitaya con concentraciones altas de compuestos bioactivos puede ayudar a superar este inconveniente al permitir su aprovechamiento como fuente de pigmentos y antioxidantes para la industria de los alimentos (Pérez et al., 2017).

#### 3.1.1 Clasificación taxonómica de la pitaya

Actualmente se ha establecido que la familia de las cactáceas (*Cactaceae*) está constituida por tres subfamilias: *Pereskioideae*, *Opuntioideae* y *Cereoideae*. A su vez, dentro de

la subfamilia *Cereoideae* se encuentra a la tribu *Pachycereae* que incluye a la subtribu *Pachycereinae* y *Stenocereinae* (González, 2006).

La subtribu de mayor importancia de la subfamilia *Cereoideae* es la *Stenocereinae* debido a que produce a las pitayas que tienen el mayor valor comercial dentro del mercado. Se considera que esta subtribu está compuesta de cinco géneros dentro de los cuales se encuentra *Stenocereus*, el cual a su vez agrupa a las especies productoras de los frutos denominados “pitayas verdaderas” (González, 2006). Bravo & Sánchez, (2002) argumentan tres diferencias importantes para la clasificación de los tres primeros géneros (*Stenocereus*, *Carnegiea* y *Lophocereus*) que son: el hábito de crecimiento, el fruto y los podarios del pericarpelo.

En el género *Stenocereus* están comprendidas las especies de mayor valor comercial y las de mejor sabor. Está constituido por 24 especies de las cuales en México se encuentran 19 distribuidas en casi todo el país (Bravo & Sánchez, 2002). La etimología de *Stenocereus* deriva de las palabras “*steno*” que significa delgado y “*cereus*” que alude a cirio, vela de cera larga y gruesa (Pimienta, 1999).

González, (2006), refiere que el origen de los ancestros del género *Stenocereus* se localiza en el Caribe y el norte de América del Sur. Se considera que emigraron al norte hasta llegar a México, donde se establecieron y obligados por las condiciones ecológicas evolucionaron en forma muy diversa. Los restos más antiguos encontrados de esta especie corresponden a los hallazgos hechos en Tehuacán, Puebla, en las especies *S. treleasei* y *S. pruinosus*, cuyos restos se les atribuye una antigüedad de los años 3500 a 2500 y 6500 a 4500 a. C., respectivamente.

Las especies más representativas en la región Mixteca Oaxaqueña son *Stenocereus griseus* (*S. griseus*) conocida también con el nombre de “pitaya de mayo” y *Stenocereus stellatus*

(*S. stellatus*), llamada comúnmente “xoconostle”. La primera se caracteriza por ser una fruta muy dulce y de gran tamaño, con espinas en el pericarpio que se caen al madurar; presenta una variedad de colores y formas, su temporada de cosecha comienza en el mes de abril y termina en el mes de mayo. El xoconostle o pitaya agria es de sabor agridulce, de menor tamaño que la pitaya de mayo, su pulpa puede ser de diferentes colores: blanca, amarilla, roja y solferina (Ayala & Beltrán, 2005).

A continuación, se muestra una Tabla 1 con la clasificación taxonómica de las principales especies de pitayas.

Tabla 1.

*Clasificación taxonómica de las principales especies de pitayas.*

<b>REINO</b>	<i>Vegetal</i>
<b>SUBREINO</b>	<i>Embriophyta</i>
<b>DIVISIÓN</b>	<i>Angiospermae</i>
<b>CLASE</b>	<i>Dicotyledoneae</i>
<b>ORDEN</b>	<i>Cactales</i>
<b>FAMILIA</b>	<i>Cactaceae</i>
<b>SUBFAMILIA</b>	<i>Cactoideae</i>
<b>TRIBU</b>	<i>Pachycereae</i>
<b>SUBTRIBU</b>	<i>Stenocereinae</i>
<b>GENERO</b>	<i>Stenocereus</i>
<b>ESPECIES (algunas)</b>	<i>S. beneckei, S. eichlamii, S. arginatus S. queretaroensis, S. treleasei, S. chacalapensis, S. fricii, S. martinezii S. quevedonis, S. thurberi, S. chrysocarpus, S. griseus, S. montanus, S. standleyi, S. weberi S. dumortieri, S. laevigatus, S. pruinosus, S. stellatus</i>

Fuente: (Bravo & Sánchez, 2002).

### **3.1.2 Características generales de la variedad *Stenocereus griseus***

*Stenocereus griseus* tiene el nombre común de “pitaya de mayo” por la época de su cosecha y por qué aparecen en los mercados aproximadamente, en el mes de mayo (Ayala et al., 2008).

El fruto de la “pitaya de mayo” (*S. griseus*) se considera una baya unilocular polispérmica, que se origina de una flor con ovario ínfero, localizado dentro de la parte final de un tallo modificado. La forma del fruto generalmente es globosa a ligeramente ovoide de 6 a 11 centímetros de longitud y de 5 a 7 cm de diámetro. Está cubierto con una cáscara o pericarpio delgado y suave en la madurez, provisto de areolas con cerdas, espinas o pelos que caducan al madurar el fruto.

El color del fruto varía desde el verde amarillento hasta el rojo púrpura. La pulpa es jugosa, rica en proteínas y muy azucarada. En su contenido químico destaca la presencia de colorantes (betacianinas y betaxantinas) con las adecuadas propiedades bromatológicas para la elaboración de productos alimenticios (González, 2006).

### **3.1.3 Composición química de la pitaya**

El color característico de sus frutos se debe a las betalaínas, pigmentos naturales hidrosolubles con nitrógeno en su estructura que se sintetizan a partir del aminoácido tirosina. Las betalaínas se dividen en dos grupos, las betacianinas, que brindan tonalidades rojas y se forman por condensación de una estructura ciclo-DOPA (dihidroxifenilalanina) con el ácido betalámico, y las betaxantinas que proporcionan coloraciones amarillas y se sintetizan a partir de diferentes aminas y el ácido betalámico (García et al., 2012).

La caracterización fisicoquímica de la pulpa de cuatro variedades estudiadas de *S. griseus*, demuestra que el contenido de sólidos solubles totales, expresados como °Brix en diversas especies de pitaya estudiadas se incrementa conforme avanza la madurez del fruto, los resultados obtenidos para sólidos solubles totales (°Brix), muestran que la variedad amarilla supera a los demás tipos presentando un valor promedio de 10.8 ° Brix, la variedad morada fue la que observó el valor más pequeño de sólidos solubles 6.63 ° Brix, para la variedad roja y naranja los valores de sólidos solubles obtenidos fueron de 8.13 y 9.07 ° Brix, respectivamente (Ayala & Beltrán, 2005).

En la Tabla 2 se muestran las propiedades químicas de diferentes variedades de pitaya *S. griseus*.

Tabla 2.

*Propiedades químicas de la pulpa de cuatro variedades de S. griseus.*

<b>Análisis</b>	<b>Roja</b>	<b>Amarilla</b>	<b>Anaranjada</b>	<b>Morada</b>
pH	4.92 ± 0.24	5.31 ± 0.02	5.53 ± 0.01	4.88 ± 0.04
Sólidos solubles (°Brix)	8.13 ± 0.81	10.8 ± 0.53	9.07 ± 0.12	6.63 ± 0.21
Humedad (%)	83.80 ± 1.13	83.94 ± 0.05	83.26 ± 0.05	86.61 ± 0.07
Acidez titulable (% de ácido málico)	0.18 ± 0.002	0.11 ± 0.002	0.04 ± 0.002	0.30 ± 0.004
Reductores directos (%)	7.25 ± 0.063	7.71 ± 0.01	7.96 ± 0.05	7.10 ± 0.01
Reductores totales (%)	7.91 ± 0.07	7.99 ± 0.01	8.03 ± 0.04	7.83 ± 0.03

Fuente: (Ayala & Beltrán, 2005).

En la Tabla 3 se muestra una comparación de la composición del porcentaje de proteínas, fibra cruda y grasa en la cáscara, pulpa y semilla de la pitaya *Stenocereus griseus*.

Tabla 3.

*Composición porcentual en base seca de la cáscara, pulpa y semilla de S. griseus.*

<b>Porción</b>	<b>% Proteína</b>	<b>% Fibra cruda</b>	<b>% Grasa</b>
Cáscara	8.39	13.54	0.64
Pulpa	9.15	14.75	0.70
Semilla	21.75	5.09	1.69

Fuente. (González, 2006).

En la Tabla 4 se muestra la composición química del jugo extraído de las pitayas de *S. griseus* y *S. stellatus*. Bravo & Sánchez, (2002). Los resultados muestran que el jugo de *S. stellatus* es más ácido con respecto al de *S. griseus*. Además, su contenido de sólidos en suspensión es menor.

Tabla 4.

*Análisis químico del jugo extraído de S. stellatus y S. griseus.*

<b>Parámetro</b>	<b><i>S. stellatus</i></b>	<b><i>S. griseus</i></b>
Acidez titulable expresada como ácido cítrico (g/100 mL)	0.64	0.115
pH	3.95	5.20
Sólidos disueltos a 20°C (%)	9.10	12.2
Sólidos en suspensión (g/100 mL)	0.685	4.0
Azúcares reductores (%)	7.9	8.12
Azúcares totales (%)	8.1	8.61
Vitamina C (mg/100 mL)	11.72	21.7

Fuente: (Bravo & Sánchez, 2002).

### **3.1.4 Producción de pitaya**

La pitaya en México se produce en una gran superficie que incluye parte de los estados de Baja California, Baja California Sur, Sonora, Sinaloa, Nayarit, Jalisco, Zacatecas, Colima, Michoacán, Guanajuato, Querétaro, San Luis Potosí, Tamaulipas, Veracruz, Morelos, Guerrero, Puebla y Oaxaca (Flores et al., 2003).

De acuerdo con el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera SIAP, (2017), los principales productores de pitaya, en el 2016, fueron Oaxaca, Jalisco y Puebla, quienes sembraron más de 97% de la superficie total, destacando Oaxaca como principal productor con 42.9% del total. El valor de la producción se registró en 68.38 millones de pesos.

En Puebla, la pitaya se produce principalmente en las regiones de la Mixteca y de Tehuacán; la Mixteca cubre cuatro distritos locales electorales (Izúcar de Matamoros, Tepexi de Rodríguez, Chiautla de Tapia y Acatlán de Osorio), con 63 municipios, y la región de Tehuacán comprende tres distritos (Tehuacán, Ajalpan y Tecamachalco), con 31 municipios. Estos distritos abarcan el sur del estado de Puebla Flores et al., (2003). En la Tabla 5, se detallan los canales de comercialización.

Tabla 5.

*Canales de comercialización, distribución y precios de la pitaya.*

Canal de comercialización	Destino	Cantidad comercializada (t)	Precios	
			Por kg	Por reja de 25 kg
Unión de ejidos y comunidades "Dichi Cuaha"	Central de Abastos, D.F.	14.0	12.0	300.0
	Huajuapán de León, Oaxaca	2.0	8.0	200.0
Intermediarios	Mercados Locales	112.0	7.0	175.0
	Tehuacán, Puebla	160.0	8.0	200.0
	Acatlán, Puebla	160.0	8.0	200.0
	Huajuapán de León, Oaxaca	160.0	8.0	200.0
	Ciudad de Puebla	32.0	10.0	250.0
<b>Total</b>		<b>640</b>		

Fuente: (Flores et al., 2003).

### **3.1.5 Usos de la pitaya**

#### **Como producto alimenticio**

En el caso del pitayo, la principal parte comestible corresponde a los frutos que produce conocidos como pitayas. Estos frutos se consumen generalmente en forma fresca o se pueden utilizar para la preparación de aguas frescas, helados o nieves. También, se han desarrollado algunos productos como son licores, concentrados de pitaya que se venden como base de productos en panificación y lácteos (González, 2006).

#### **Como colorante**

La pulpa de la pitaya (*Stenocereus spp.*) contiene por lo menos 78 pigmentos hidrosolubles que van desde el blanco hasta el rojo carmesí, predominando las betalaínas, incluso se ha visto que estos pigmentos pueden ser utilizados como colorantes ya sea para la industria alimenticia como en la farmacéutica (Acosta, 2000).

## **3.2 Vino de Frutas**

### **3.2.1 Concepto**

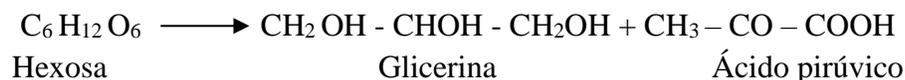
Se define como vino de frutas tropicales, el producto de la fermentación alcohólica normal del jugo de las frutas, tal como, piña, acerola, tomate, maracuyá y de la maceración de guayaba, mango, guineo, papaya, guanábana y de otras frutas de las que comúnmente se producen en la zona tropical y cuyo contenido alcohólico no exceda de 24 % (v/v) (Ramírez, 2005).

El vino es una bebida que se produce a partir de la fermentación alcohólica del mosto, en donde los azúcares reductores como glucosa y fructosa son convertidos a etanol y CO<sub>2</sub> debido a la acción de las enzimas presentes en las levaduras. En el caso de la molécula de glucosa, se

producen dos moléculas de etanol y dos moléculas de CO<sub>2</sub>, tal como se ilustra en la ecuación de Gay-Lussac y que se expresa de la manera siguiente:



Además, durante la fermentación alcohólica de vinos se producen otros compuestos asociados a una fermentación gliceropirúvica, la cual se conoce como la ecuación de Neuberg:



Uno de los mecanismos por el cual se lleva a cabo la fermentación alcohólica se conoce como glicolisis. Este se lleva a cabo en el citoplasma de las levaduras, generando energía para mantener el crecimiento y el metabolismo de estas. La glicolisis, involucra diez reacciones intermedias en las que el producto final es el ácido pirúvico, posteriormente este es descarboxilado a acetaldehído y finalmente es reducido a etanol. Durante el inicio de la fermentación, las levaduras mantienen un crecimiento exponencial logarítmico. La presencia del alcohol inhibe el crecimiento de otros microorganismos en el mosto (mohos, bacterias y levaduras silvestres). Esto también influye en el crecimiento de las levaduras genuinas cuando la cantidad de alcohol presente en el medio es de 15 -17.5 % (v/v).

Existen otras frutas que pueden ser usadas para producir este tipo de bebidas alcohólicas. Según su contenido alcohólico no exceda el 24 % (v/v) de alcohol.

### ***3.2.2 Factores a controlar en el proceso de elaboración del vino de frutas***

La calidad de un vino está altamente relacionada con el sabor y el aroma. Existen algunos factores que influyen marcadamente en las características sensoriales de un vino, entre ellas se encuentran, la variedad de fruta, los microorganismos usados para la fermentación y el tiempo de añejamiento. También la pasteurización del producto final puede tener un impacto en las

características sensoriales, debido a que algunos aromas están bien definidos, que podrían conservarse después de la fermentación.

Una característica muy importante en los vinos es la acidez, la cual influye en las propiedades finales del producto y esta influye en la conservación, estabilidad y propiedades organolépticas del vino. La acidez de los vinos está en función de la composición de los ácidos presentes en el vino. Dentro de los ácidos encontrados en los vinos se encuentran, los originarios de la fruta, los procedentes de la fermentación y los ácidos inorgánicos (Ramírez, 2005).

### ***3.2.2.1 Caracterización fisicoquímica del mosto base y el producto final***

De acuerdo con Pájaro et al., (2018), para el análisis de la materia prima, mosto base y producto final (vino) se toman en cuenta aspectos fundamentales como los que se describen a continuación.

### ***3.2.2.2 La importancia del pH en el vino***

La velocidad de oxidación depende de la concentración del ión fenolato en el medio, y éste, a su vez, depende del pH. El ión fenolato es capaz de transferir un electrón a una molécula de oxígeno, originando el radical libre anión superóxido, mientras que el fenol se convierte en quinona. Esto origina una reacción en cadena, que acelera la velocidad de oxidación. La reacción de ionización del fenol, originando fenolato. Puede suponerse que, a medida que el pH crece, aumenta la cantidad de moléculas bajo la forma de fenolato, y por lo tanto la susceptibilidad a la oxidación.

El pH del vino define la velocidad de oxidación y deterioro de la calidad desde un punto de vista organoléptico, a mayor pH, mayor riesgo de oxidación del vino durante su conservación. Por otra parte, el pH condiciona el equilibrio entre las distintas fracciones de dióxido de azufre.

A mayor pH, menor concentración de SO<sub>2</sub> libre, por lo tanto menor protección ante la oxidación (Paladino et al., 2008).

De acuerdo al proyecto de la caracterización fisicoquímica y microbiológica de un vino de frutas a base de tamarindo (*Tamarindus indica L.*) y Carambola (*Averrhoa carambola L.*), el pH del mosto fue de 3.7 el cual no fue necesario corregirlo ya que el valor estaba cercano a 4, lo que indica que presentaba las adecuadas condiciones para la fermentación y obtención del vino de frutas (Pájaro et al., 2018).

El pH óptimo para el crecimiento de bacterias en vino está entre 4.2 y 4.5. Por lo anterior, vinos con un pH mayor a 4.0 tienen un mayor potencial de padecer problemas microbiológicos que vinos con pH cercanos a 3.5. En el mejor de los casos, estos pH se obtienen directamente de la fruta, declarado por Gutiérrez, (2020), en la investigación de Vino de mora (*Rubus ulmifolius*) y flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) con propiedades antioxidantes y nutricionales como un producto innovador.

La levadura trabaja mejor en medio relativamente ácido por lo que el pH debe mantenerse entre 3.4 y 3.5, por lo que deberá ajustarse el mosto a este requerimiento (Coronel, 2008).

En la Tabla 6, se muestra una comparación de los valores del pH tanto de la materia prima como del producto final, de las diferentes formulaciones para vinos de frutas que han realizado otros autores como antecedentes a la presente investigación.

Tabla 6.

*Valor del pH de diferentes vinos de frutas*

Muestra	pH		
	Vino de mora y flor de jamaica	Vino de tres variedades de pitahaya	Vino de tamarindo y carambola
Jugo/infusión	Mora 3.8	Roja 5.51	Carambola 3.9
	Jamaica 2.65	Rosa 5.72	Tamarindo 2.7
Vino	3.5	Blanca 6.00	3.07
		Roja 3.65	
		Rosa 3.67	
		Blanca 3.85	

Fuente: (Ochoa & García l, 2012; Pájaro et al., 2018; Gutiérrez, 2020)

### 3.2.2.3 Sólidos solubles (°Brix)

El contenido de azúcar, determina la cantidad final de alcohol que se habrá producido por fermentación y que, al ejercer una acción antiséptica, limitará la población de levaduras. Esta concentración límite de alcohol está entre 12 y 14% para la mayoría de las levaduras, la cual se alcanza partiendo de un contenido inicial de azúcar de 20-22%.

El mosto para fermentación alcohólica debe tener un contenido de sólidos solubles de entre 16 y 20 °Brix, debido a que a valores menores de 16 °Brix el grado alcohólico obtenido es muy bajo; contrario a esto, si el contenido de sólidos solubles es muy alto la fermentación no se efectúa. Esto se debe a que la presión osmótica que se ejerce sobre las levaduras es grande y no permite que actúen sobre los azúcares.

La concentración de azúcar determina la cantidad final de alcohol en el vino y este último asegura su estabilidad al actuar como antiséptico del mismo. Su valor óptimo está en 20-22%, con el cual se obtiene la máxima concentración posible de etanol, 12-14% (Coronel, 2008).

De acuerdo a las investigaciones de Pájaro et al., (2018) en la caracterización fisicoquímica y microbiológica de un vino de frutas a base de tamarindo (*Tamarindus indica L.*)

y Carambola (*Averrhoa carambola L.*) la corrección del mosto se realizó a partir de la medición inicial de los sólidos solubles (°Brix) y pH, normalmente las frutas por ser tropicales no tienen un contenido de azúcar suficiente como para realizar la fermentación simplemente a partir de ella. Consecuentemente, se vuelve necesario agregar azúcar convencional para obtener al final del mezclado e inicio de la fermentación un mosto con un contenido de sólidos solubles en el intervalo de 17 a 23 °Brix.

La investigación de Tasayco, (2019), describe que la variación de los °Brix influye inversamente en el tiempo de fermentación. En cambio, la generación de alcohol muestra una relación directa siguiendo una tendencia no lineal, demostrándose que a pH mayor la degradación de los azúcares se ve favorecida, siendo mayor a pH 4.5.

En la Tabla 7, se muestra una comparación de los valores de los sólidos solubles en °Brix, tanto de la materia prima como del mosto base y del producto final, de las diferentes formulaciones para vinos de frutas reportados en la literatura.

Tabla 7.

*°Brix de diferentes vinos de frutas*

Muestra	Sólidos solubles °Brix		
	Vino de mora y flor de jamaica	Vino de pitahaya (variedad)	vino de tamarindo y carambola
Fruto	Mora 6.5 Jamaica 3	Roja: 9.03 Rosa: 13.90 Blanca: 10.43	Carambola: 16 Tamarindo: 12
Mosto	33	15	23
Vino	15	Roja: 8.17 Rosa: 9.02 Blanca: 10.43	13.5

Fuente: (Coronel, 2017; Pájaro et al., 2018; Tasayco, 2019)

#### 3.2.2.4 Acidez total

En los vinos la acidez total está constituida por los ácidos valorables del vino, principalmente el tartárico y málico, otros ácidos intervienen en menor grado (láctico y acético), pero todos aportan propiedades interesantes que no deben ser despreciadas. Finalmente, la presencia conjunta de todos estos ácidos contribuye al desarrollo de aromas provenientes de la esterificación de alcoholes (Fernández et al., 2009).

Uno los factores que determinan el desarrollo de la fermentación en un determinado jugo de frutas es la acidez, la cual es determinante para las funciones básicas de las levaduras, llegando a mostrar un óptimo crecimiento cuando el medio posee un valor cercano al 0.55% siendo equivalente a un pH cercano a 3.2 (Coronel, 2008).

En la caracterización físico química del vino de semeruco (*Malpighia spp.*) elaborado artesanalmente en la Península de Paraguaná del estado Falcón, Venezuela, fueron analizados tres lotes de vino elaborados en diciembre 2006, mayo y octubre 2007. Los valores obtenidos de acidez total evidenciaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) y estuvieron comprendidos entre 4.78 y 6.23 g/L y son mayores al mínimo de 4 g de ácido tartárico/L, establecido en la Norma Venezolana COVENIN 3344 para vinos y sus derivados y no existe límite superior para este parámetro en particular (Nemeth et al., 2010).

En la Tabla 8, se muestra una comparación de los valores de la acidez total tanto de la materia prima como del producto final, de las diferentes formulaciones para vinos de frutas reportados en la literatura.

Tabla 8.

*Valor de la acidez total de diferentes vinos de frutas*

<b>Muestra</b>	<b>Vino de mora y flor de jamaica (g/L)</b>	<b>Vino de pitahaya (<i>Hylocereus spp</i>) (g/L)</b>	<b>Vino a base de tamarindo y carambola (g/L)</b>
Fruto	Mora 8 Jamaica 18	Roja 3 Rosa 7 Blanca 6	Carambola 4 Tamarindo 4.49
Mosto base	6	5.5	6.1
Vino	6.46	Roja 10 Rosa 9.1 Blanca 6.6	5.25

Fuente:(Coronel, 2017; Fernández et al., 2009; Nemeth et al., 2010).

### 3.2.2.5 *Temperatura*

La temperatura influye en la actividad de las enzimas, que están presentes en varios momentos durante todo el proceso de producción del vino. Las enzimas están ya presentes en la fruta y pueden afectar al aroma a través de la oxidación e influir en la degradación de la masa de frutas durante la maceración. También son responsables de los procesos metabólicos en los microorganismos vivos, como bacterias, levaduras y hongos. La mayoría de las especies que se ven afectadas durante la vinificación son: bacterias acéticas, bacterias lácticas, levaduras y el hongo *Botrytis cinerea*. Sus actividades están siempre influenciadas por la temperatura. Por lo tanto, el enólogo tiene la posibilidad de controlar estos factores mediante el control de la temperatura.

El aumento en la temperatura acelera los procesos enzimáticos. En los sistemas biológicos las reacciones no tienen lugar a 0°C. Por encima de 0 °C, las reacciones comienzan lentamente y llegan a un máximo en torno a 37 °C. Temperaturas de más de 37 °C, cambian la estructura de las enzimas y, por último, dan lugar a la disminución y eliminación de la actividad enzimática. Por lo tanto, cada proceso enzimático tiene su temperatura óptima y el enólogo

puede elegir entre retrasar y aumentar la actividad de ciertos microorganismos mediante el control de la temperatura.

La actividad de los microorganismos depende siempre de la temperatura del medio, por tanto la actividad fermentativa de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, está influenciada por la temperatura del mosto. Desde un punto de vista metabólico, un intervalo de temperaturas de 20-25 °C es muy favorable para el buen desarrollo de la fermentación alcohólica. Sin embargo, a esta temperatura se puede correr el riesgo de que la fermentación se lleve a cabo demasiado rápidamente y como consecuencia se podría reducir la presencia de algunos compuestos aromáticos. Así pues, en general, las fermentaciones alcohólicas se deben realizar dentro de un intervalo de temperatura de 15-18 °C con el fin de conseguir completar la fermentación sin problemas. Si la temperatura de fermentación desciende por debajo de 10 °C, se deben utilizar cepas de levaduras seleccionadas específicas capaces de realizar la fermentación alcohólica a esta temperatura. La fermentación espontánea con levaduras indígenas suele necesitar más tiempo, especialmente a bajas temperaturas. Las temperaturas bajas inhiben el crecimiento de las levaduras indígenas y, por lo tanto, retrasan el inicio de la fermentación (Werner & Rauhut, 2009).

La temperatura durante la fermentación debe controlarse pues durante la misma se produce un relativo aumento de esta, pues la descomposición de los azúcares produce una reacción exotérmica es decir con desprendimiento de calor. La temperatura óptima para la fermentación oscila entre 24 y 32 °C siendo 27 °C la más adecuada. Si la temperatura es muy baja la fermentación es lenta, si la temperatura excede de los 35°C disminuye la acción de las levaduras y si esta aumenta por encima de los 40 esta se puede detener (Coronel, 2008).

En la tabla 9, se muestra una comparación de la temperatura utilizada durante el proceso de fermentación, de las diferentes formulaciones para vinos de frutas reportados en la literatura.

Tabla 9.

*Tiempo y temperatura para la fermentación de diferentes vinos de frutas*

<b>Características</b>	<b>Vino de mora y flor de jamaica</b>	<b>Vino de tres variedades de pitahaya</b>	<b>Vino de frutas a base de tamarindo y carambola</b>
Temperatura	ambiente	20-25 °C.	ambiente
Tiempo (días)	20	30	12

Fuente: (Gutiérrez, 2020; Ochoa & García I, 2012; Pájaro et al., 2018)

### 3.2.2.6 *Grado alcohólico*

La graduación alcohólica se expresa en grados Gay Lussac (°GL) y lo que mide es el contenido de alcohol absoluto en 100 mL o, lo que es lo mismo, el porcentaje de alcohol que contiene una bebida. Es decir, que un vino con 13 °GL equivale a 13 mL de alcohol por cada 100 mL de bebida = 13 % es alcohol absoluto. El grado alcohólico viene expresado en los envases como (°) o bien como % vol. En el informe “Alcohol y atención primaria de la salud”, se indica que los vinos contendrán entre el 10.5 y el 18.9 % de alcohol (J. A. López & Martínez, 2013).

Las bebidas alcohólicas se clasifican por su proceso de elaboración y sus respectivas especificaciones como se señala en la NOM-142-SSA1/SCFI-2014, como se muestra en la Tabla 10.

Tabla 10.

*Clasificación general de bebidas alcohólicas*

<b>Clasificación</b>	<b>Contenido alcohólico (% v/v)</b>
Bebidas Alcohólicas Fermentadas	2 a 20 %
Bebidas Alcohólicas Destiladas	32 a 55 %
Licores o Cremas	13.5 a 55 %
Cocteles	12 a 32 %
Bebidas Alcohólicas Preparadas	2 a 12 %

Fuente: (Secretaría de Economía, 2015).

Oré et al., (2019) evaluarón las propiedades fisicoquímicas (°Brix, pH, °Alcohol) del vino de oca, para dos tiempos de fermentación (21 y 28 días), en ambos casos a 26 °C de temperatura. La muestra con mayor aceptación fue la obtenida en un tiempo de fermentación de 21 días y presentó las propiedades siguientes, se °Brix de 5.00, pH de 2.98 y grado alcohólico de 8.10°. La muestra fermentada durante 28 días presenta una disminución en los °Brix debido a la degradación del azúcar presente por parte de la levadura. Los resultados indican que a mayor tiempo de fermentación los sólidos solubles (°Brix) disminuyen y el grado alcohólico incrementa.

En la Tabla 11, se muestra una comparación del grado alcohólico de diferentes formulaciones para vinos de frutas.

Tabla 11.

*Grados de alcohol de diferentes vinos de frutas*

Muestras	Grado alcohólico		
	Vino de mora y flor de jamaica (%)	Vino de tres variedades de pitahaya (%)	Vino de tamarindo y carambola (%)
Vino	8.36	Roja 3.9 Rosa 3 Blanca 2.9	8.89

Fuente: (Gutiérrez, 2020; Ochoa & García I, 2012; Pájaro et al., 2018)

### 3.3 Propiedades funcionales en vino de frutas

#### 3.3.1 Capacidad antioxidante

El término “capacidad antioxidante” (CA) se utiliza para referirse a la capacidad que poseen los antioxidantes para atrapar radicales libres, aunque en otros casos se relaciona a la capacidad de inhibir la oxidación. Estos conceptos de capacidad antioxidante e inhibición de

oxidación son distintos, por lo tanto, la capacidad de los antioxidantes debe ser determinada mediante dos factores: la velocidad de scavenging y la cantidad de radicales libres atrapados (Salinas, 2017).

Un radical libre se define como cualquier especie (átomo, molécula o ión) capaz de existir de forma independiente que contiene uno o más electrones desapareados en su orbital más externo. Esta es una característica común entre radicales. Muchos radicales son inestables y altamente reactivos, siendo capaces de donar o aceptar un electrón desde otras moléculas, actuando como reductores u oxidantes.

Las frutas y hortalizas se caracterizan por el alto contenido de compuestos con capacidad antioxidante; compuestos tales como los fenoles, pigmentos y vitaminas contribuyen a retardar los daños producidos a nivel del sistema nervioso central, como consecuencia del envejecimiento de las células (Ochoa & García I, 2012).

Algunos de estos antioxidantes, como glutatión y ácido úrico son llamados antioxidantes endógenos, ya que se producen durante el metabolismo del cuerpo humano.

Los antioxidantes exógenos se encuentran en la dieta.

Dentro de los principales antioxidantes en los alimentos es posible distinguir:

- (i) vitaminas, como vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol) y vitamina C (ácido ascórbico)
- (ii) Carotenoides, entre los que destacan la luteína, licopeno, zeaxantina y astaxantina.
- (iii) compuestos polifenólicos, donde distinguen flavonoides y no flavonoides.

### 3.3.2 Método de poder reductor férrico FRAP

El método FRAP fue desarrollado originalmente por Benzie y Strain para medir el poder reductor del plasma; sin embargo, posteriormente fue adaptado para medir actividad antioxidante de productos fitoterapéuticos y nutraceuticos. Como se muestra en la Figura 1, la reacción mide la reducción de 2,4,6-Tripiridiltriázina Férrica (TPTZ) a un producto coloreado y detecta compuestos con potenciales redox  $<0.7$  V. Se cree que el poder reductor está correlacionado con el grado de hidroxilación y conjugación de los polifenoles; sin embargo, FRAP no puede detectar compuestos que actúan por un mecanismo de transferencia de átomos de hidrógeno (TAH), descartando el potencial antioxidante de mezclas que contengan grupos funcionales con estas características, por ejemplo, tioles.

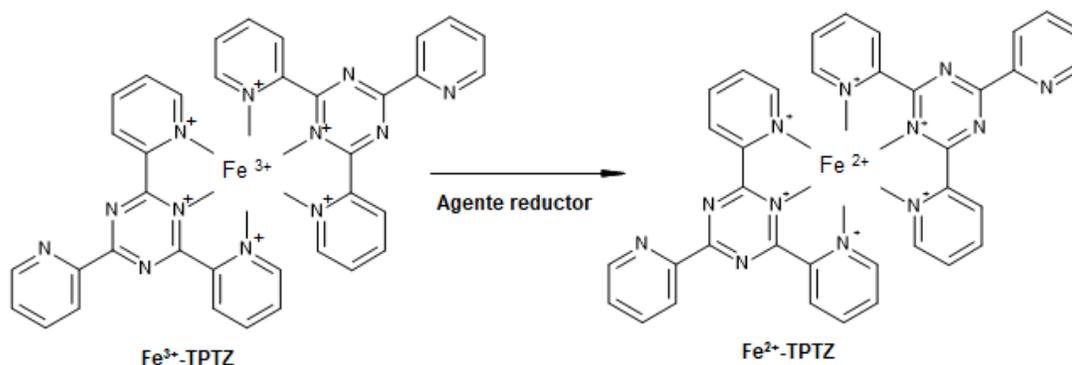


Figura 1. Reducción de 2,4,6-Tripiridil-Triazina Férrica (TPTZ).

Se ha argumentado que la capacidad para reducir el Fe<sup>3+</sup> se correlaciona poco con la estabilización de radicales libres; sin embargo, la oxidación o reducción de radicales para formar iones puede detener la oxidación en cadena y por lo tanto el poder reductor reflejaría la capacidad de un compuesto para regular el estado redox del plasma o tejidos. El método FRAP sigue un mecanismo típicamente de transferencia de electrones (TE) y; por lo tanto, en

combinación con otros métodos puede ser útil para distinguir el mecanismo dominante de diferentes antioxidantes. Adicionalmente, como los metales reducidos son propagadores de reacción en cadena de peroxidación lipídica por el rompimiento de hidroperóxidos a radicales alcóxidos. Esto podría ser interesante para evaluar si altos valores FRAP correlacionan con la tendencia de algunos antioxidantes para actuar como prooxidantes bajo algunas condiciones (Londoño, 2010).

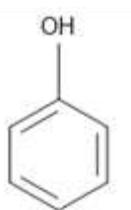
El método FRAP se fundamenta en la reducción del hierro férrico ( $\text{Fe}^{+3}$ ) presente en el reactivo de FRAP hasta la forma ferrosa ( $\text{Fe}^{+2}$ ) por presencia de antioxidantes.

El reactivo FRAP está constituido por un amortiguador de ácido acético-acetato de sodio (pH 3.6), TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina) y  $\text{FeCl}_3$ . Este reactivo en presencia de un agente reductor se torna de una coloración azul, de intensa proporcionalidad a la capacidad reductora de la muestra (se genera un complejo ferroso-TPTZ). Este complejo puede cuantificarse espectrofotométricamente a una longitud de onda de 593 nm. Generalmente, se utilizan como estándares sulfato ferroso o trolox (Rioja et al., 2018).

### **3.3.3 Fenoles totales**

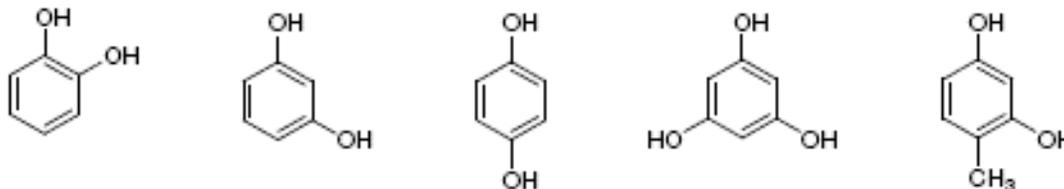
Los compuestos fenólicos se relacionan estrechamente con la capacidad antioxidante de un vino. No existe un único compuesto fenólico responsable de la actividad antioxidante del vino, sino que esta se explica por el conjunto de todos ellos. Los principales compuestos asociados a la capacidad antioxidante son los derivados de ácidos benzoicos, ácidos cinámicos, estilbenos y flavonoides. Debido a su estructura química, estos compuestos pueden neutralizar

radicales libres a través de la donación del átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo del anillo aromático, como se muestra en la Figura 2.



*Figura 2.* Estructura química del fenol.

Los fenoles son los compuestos lábiles a oxidarse más importantes, Figura 3, debido a su facilidad para reaccionar con especies reactivas de oxígeno (ROS). Además de ser donadores de electrones a bajo pH, son conocidos por participar en reacciones de oxidación y son bastantes diversos en cuanto a su estructura y propiedades redox (Salinas, 2017).



*Figura 3.* Estructuras químicas de compuestos fenólicos simples.

Los compuestos fenólicos constituyen una de las principales clases de metabolitos secundarios de los vegetales, donde desempeñan diversas funciones fisiológicas. Se trata de compuestos que intervienen en el crecimiento y reproducción de las plantas, así como en procesos defensivos contra agentes patógenos, depredadores o radiación ultravioleta. Tradicionalmente se han considerado como sustancias antinutritivas debido al efecto adverso de uno de sus componentes principales, los taninos, en la digestibilidad de proteínas. Sin embargo, actualmente existe gran interés en estos compuestos debido a la gran variedad de actividades

biológicas que presentan, considerándose uno de los compuestos fitoquímicos alimentarios más importantes por su contribución al mantenimiento de la salud humana. La actividad biológica de los polifenoles está relacionada con su carácter antioxidante, el cual es debido a su habilidad para quelar metales, inhibir la actividad de la enzima lipooxigenasa y actuar como atrapadores de radicales libres. De hecho, diversas organizaciones internacionales, en el ámbito de la nutrición, recomiendan un consumo diario como mínimo de cinco raciones de fruta o verdura, para asegurar una adecuada ingesta de antioxidantes y prevenir enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo (García Martínez et al., 2015).

De acuerdo al artículo científico, denominado evaluación química del vino de semeruco (*Malpighia spp.*) producido en el estado Falcón, Venezuela, las concentraciones de polifenoles totales estuvieron comprendidas entre 1.61 y 2.26 g/L, evidenciándose diferencias estadísticamente significativas. Estas diferencias podrían deberse al estado de madurez de la cosecha o características propias de la especie usada en el proceso de fermentación, sin embargo, coinciden con lo reportado en vino de uva (1.543-2.267 g/L) y ligeramente inferiores a los determinados en vino tinto comercial (3.78g /L) (Nemeth et al., 2010).

### 3.3.4 Método de Folin Ciocalteu

De acuerdo a lo descrito por García Martínez et al., (2015), el ensayo de Folin-Ciocalteu se utiliza como medida del contenido en compuestos fenólicos totales en productos vegetales. Se basa en que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu, a pH básico, dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm. Este reactivo contiene una mezcla de tungstato de sodio y molibdato sódico en ácido fosfórico y reacciona con los compuestos fenólicos presentes en la muestra. El ácido fosfomolibdotúngstico (formado por las dos sales en el medio ácido), de color amarillo, al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul intenso, cuya intensidad es la que medimos para evaluar el contenido en polifenoles, ilustrado en la Figura 4.

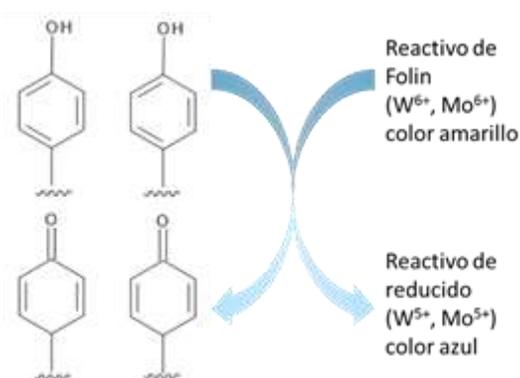


Figura 4. Mecanismo de acción del reactivo de Folin Ciocalteu.

El mecanismo de reacción es una reacción redox, por lo que además puede considerarse también, como un método de medida de la actividad antioxidante total.

La oxidación de los polifenoles presentes en la muestra, causa la aparición de una coloración azulada que presenta un máximo de absorción a 765 nm, y que se cuantifica por espectrofotometría en base a una recta patrón de ácido gálico, Figura 5. Se trata de un método preciso y sensible, que puede padecer numerosas variaciones, fundamentalmente en lo relativo a los volúmenes utilizados de la muestra a analizar, concentración de reactivos y tiempo de reacción.

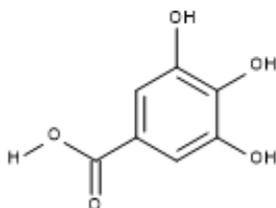


Figura 5. Ácido gálico.

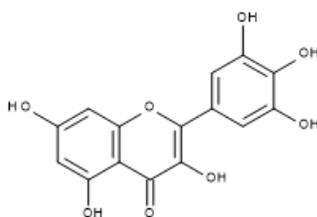
También se pueden producir variaciones en el modo de expresar los resultados, sin embargo, el patrón recomendado es el ácido gálico. Este ensayo de análisis de los polifenoles totales, se utiliza con frecuencia en el estudio de las propiedades antioxidantes de alimentos vegetales, como zumos de fruta, al tratarse de un parámetro que generalmente, muestra una estrecha correlación con los diferentes métodos de medición de la actividad antioxidante.

### 3.3.5 Flavonoides

En la actualidad hay un interés creciente en los antioxidantes, en particular en aquellos que previenen los efectos nocivos de los radicales libres en el cuerpo humano, existe preferencia por los antioxidantes naturales y no de fuentes sintéticas (Leyva, 2009).

Los flavonoides (del latín *flavus*, amarillo) y las antocianinas son compuestos fenólicos solubles en agua, metanol y etanol, con características de glucósidos; contienen como aglucón un núcleo flavilo al cual se une una fracción azúcar por medio de un enlace b-glucosídico. En

realidad, algunos flavonoides son precursores en la biosíntesis de antocianinas. Son pigmentos no nitrogenados, con un esqueleto de difenilpropano derivado del ácido shiquímico. Los flavonoides pueden tener estructuras simples o muy complejas, debidas a la polimerización, como es el caso de los taninos condensados, que alcanzan pesos superiores a 30,000 Da. Hay 13 subclases de flavonoides, lo que da un total de más de 5,000 compuestos que proporciona colores amarillos y naranjas a frutas como peras, fresas, manzanas, cerezas, duraznos, naranjas y limones; así como a hortalizas como cebollas y brócoli, y otros alimentos como el té verde, en donde son responsables en gran parte de su astringencia. Otros flavonoides proporcionan el color rojizo de las hojas de otoño. Muchas veces, los flavonoides son la respuesta adaptativa de las plantas a la radiación intensa. Dado que tienen una estructura química muy parecida a la de las antocianinas, normalmente se encuentran en diversos frutos junto con ellas ya que ambos grupos de pigmentos siguen un proceso biosintético común. Muchos flavonoides son especies reactivas que sirven de sustratos a varias enzimas, a través de los cuales se forman otros pigmentos debido a degradación o decoloración, o por la formación de pigmentos por transformación *de novo* a partir de precursores coloridos o incoloros (Badui, 2006).



*Figura 6.* Estructura química de los flavonoides.

### 3.3.6 Antocianinas

Las antocianinas representan el grupo más importante de pigmentos hidrosolubles responsables de la gama de colores que abarcan desde el rojo hasta el azul en diferentes órganos de las plantas. El interés por los pigmentos antociánicos se ha incrementado en los últimos años debido a su papel en la reducción de las enfermedades coronarias, cáncer y diabetes; así como por sus efectos antiinflamatorios, mejora de la agudeza visual y comportamiento cognitivo (P. García, 2016).

Las antocianinas (del griego *anthos*, flor y *kyanos*, azul) se consideran una subclase de los flavonoides; también se conocen como flavonoides azules. Son compuestos vegetales no nitrogenados pertenecientes a la familia de los flavonoides, de amplia distribución en la naturaleza. A pesar de contener pocos grupos cromóforos, se han identificado 300 de estos compuestos, que son responsables de una gama muy amplia de colores, desde el incoloro hasta el púrpura. Producen colores rojo, anaranjado, azul y púrpura de las uvas, manzanas, rosas, fresas y otros productos de origen vegetal, principalmente frutas y flores. Generalmente se encuentran en la cáscara o piel, como en el caso de las peras y las manzanas, pero también se pueden localizar en la parte carnosa, como en las fresas y las ciruelas (Badui, 2006).

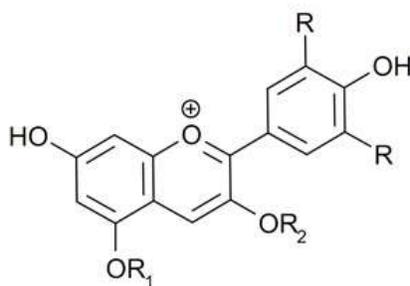


Figura 7. Estructura de las antocianinas.

Las antocianinas pertenecen al grupo de los flavonoides y están formada por un esqueleto consistente en dos anillos bencénicos y uno heterocíclico con oxígeno. El núcleo central flavilo constituye la antocianidina, que unida a la fracción azúcar, forma las antocianinas. Se conocen aproximadamente 20 antocianidinas, las más importantes son pelargonidina, delphinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina, Figura 8. Los nombres de estos compuestos derivan de la fuente vegetal de donde se aislaron por primera vez. La combinación de las antocianidinas con los diferentes azúcares genera aproximadamente las 300 antocianinas que se conocen hoy en día. Es muy común que una misma antocianidina interaccione con más de un carbohidrato para formar diferentes antocianinas.

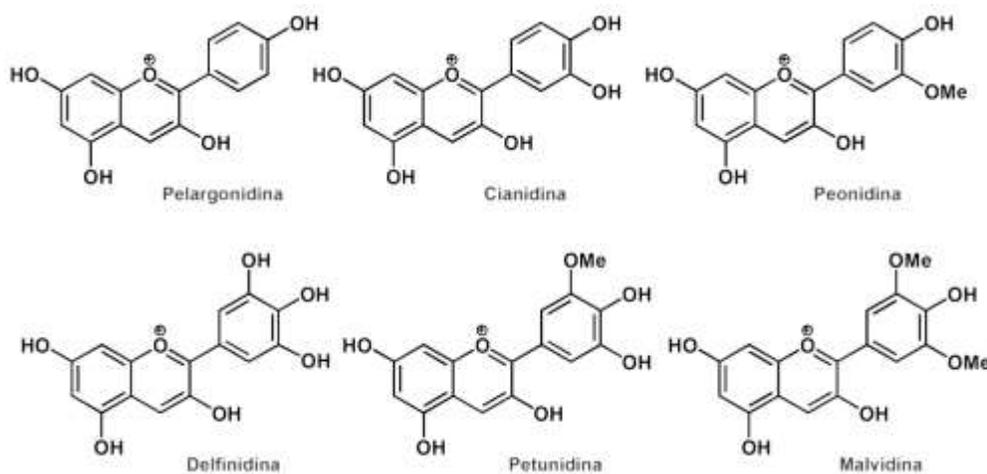


Figura 8. Estructura de algunas antocianinas

### 3.3.7 Método del pH diferencial

Considerando al pH como uno de los principales factores del medio que afecta la estabilidad del color de las antocianinas, los espectros de UV-VIS a diferentes valores de pH también varían. Esto ayuda a determinar si las antocianinas están o no polimerizadas. La concentración de antocianinas entonces se determina con la absorbancia a un pH diferencial.

Estas moléculas generan dos bandas de absorción en la región UV (260-280 nm) y la región visible (490-550 nm). Los resultados se expresan como pigmentos de antocianinas monoméricas, generalmente expresados como cianidina-3- glucósido.

El método de pH-diferencial propuesto por Justin y Wrolstad (2001) citado por (Leyva, 2009) permite la estimación alternativa del contenido de antocianinas totales, incluso en la presencia de pigmentos polimerizados y otras interferencias mediante el uso de sistemas tampón, el empleo de un agente blanqueador, bisulfito, y la medición por espectroscopia de UV-Visible. Este último consiste en el uso de un agente blanqueador que decolorará a las antocianinas sin afectar a los compuestos interferentes, Figura 9. Se obtiene una medida de la absorbancia máxima en la región visible, seguida por la decoloración. Los agentes blanqueadores más empleados son sulfito de sodio y peróxido de hidrógeno (Leyva, 2009).

La cuantificación de antocianinas totales por pH diferencial, se fundamenta en la particularidad de los compuestos antociánicos de adoptar diferentes coloraciones y estructuras a determinados pH, siendo para este método la concentración de antocianinas totales proporcional a la diferencia entre las absorbancias a pH = 1 y pH = 4.5 (Cosavalente et al.,

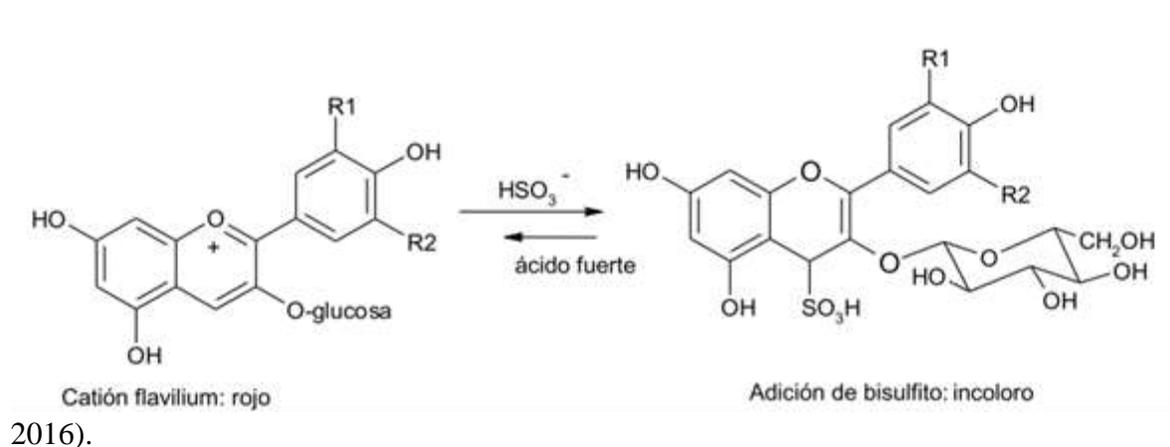


Figura 9. Reacción de las antocianinas para formar antocianinas-sulfónicas incoloras.

### 3.3.8 *Betalaínas*

Este término se refiere a un grupo de aproximadamente 70 pigmentos hidrosolubles, con estructuras de glucósidos, derivados de la 1,7-diazoheptametina, y que se han dividido en dos grandes clases: los rojos o betacianinas, y los amarillos o betaxantinas. Estos compuestos son similares a las antocianinas y flavonoides en apariencia visual. Anteriormente se les llamaba antocianinas nitrogenadas. Estos pigmentos se encuentran sólo en 10 familias: *Aizoaceae*, *Amaranthaceae*, *Basellanaceae*, *Cactaceae*, *Chenopodaceae*, *Didiereaceae*, *Holophytaceae*, *Nyctaginaceae*, *Phytolaccaceae* y *Portulacaceae*. También se han encontrado algunas betalaínas de origen fúngico. Las betalaínas, al igual que las antocianinas, se acumulan en las vacuolas celulares de las flores, frutas y hojas que las sintetizan, principalmente en la epidermis y subepidermis.

A la fecha se ha aislado una betacianina violeta, la muscapurpurina, y siete betaxantinas amarillas, las muscaurinas, del hongo venenoso *Amanita muscaria*. De las fuentes de betalaínas, sólo el betabel, el amaranto y las frutas de cactáceas (tunas rojas, pitaya, garambullo, jiotilla) son productos alimentarios. La del amaranto (*Amaranthus tricolor*), amarantina, es una de las betacianinas que últimamente ha sido motivo de investigación, se ha usado en algunos países para colorear diversos alimentos (Badui, 2006).

Son innegables los beneficios que acarrea a la salud humana el mantener una dieta elevada en frutas y verduras, beneficios que se atribuyen principalmente al poder antioxidante de los fitoquímicos contenidos en estos alimentos. Entre los cuales destacan los compuestos fenólicos ampliamente distribuidos en el reino vegetal.

Las betalaínas también son fitoquímicos considerados como potentes antioxidantes; sin embargo, su presencia está restringida a solamente algunas familias de plantas relacionadas con

el orden *Caryophyllales*, dentro de la cual destacan los géneros *Beta*, *Amaranthus*, *Opuntia* e *Stenocereus*, *Hylocereus* (L. García et al., 2012).

Las betalaínas Figura 10, son pigmentos hidrosolubles cuyas fuentes vegetales más conocidas son la remolacha roja y los frutos del género *Opuntia*. Se dividen en dos grupos, las betacianinas (color rojo, violáceo) y las betaxantinas (anaranjadas, amarillentas). La estructura de amina cuaternaria, en un sistema de dobles enlaces proporciona actividad reductora a las betalaínas, consideradas por ello fitoquímicos con actividad antioxidante (P. García, 2016).

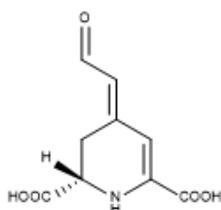


Figura 10. Estructura química del ácido betalámico.

Además de dar coloración a los frutos que las contienen y poseer actividad antioxidante, las betalaínas son reconocidas por otras importantes actividades biológicas, tales como la inducción de la quinona reductasa, potente enzima de detoxificación en la quimio prevención del cáncer y su actividad antiproliferativa de células de melanoma maligno Wu et al., 2006, citado por (L. García et al., 2012). De acuerdo a su estructura química las betalaínas se dividen en dos subgrupos, Figura 11, las betaxantinas y betacianinas. Las betaxantinas son productos de

condensación de este ácido con aminas o aminoácidos y abarcan las tonalidades amarillas a anaranjadas.

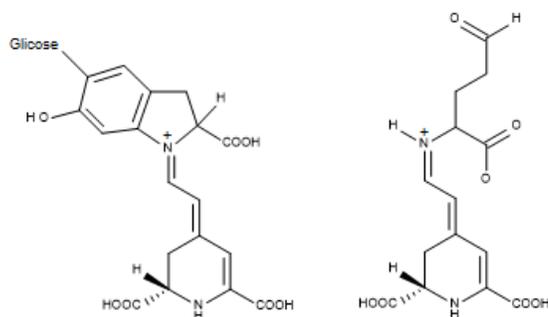


Figura 11. Estructura química de los subgrupos de las betalainas.

Las betacianinas poseen una estructura cíclica tipo Dopa y pueden presentar diferentes sustituyentes y proporcionan los colores rojo y violeta, siendo la betanina la más conocida. Las betalainas son compuestos cuya presencia en vegetales es limitada, aunque pueden concentrarse en diferentes partes de la planta, por ejemplo, en raíces como en el caso de la remolacha, en flores como portulacas y en frutos como tunas moradas (*O. ficus-indica*). Numerosos estudios revelan cada vez más enfermedades que involucran radicales libres. En los sistemas biológicos estas especies oxidantes pueden atacar a lípidos, dañando las células como resultado de este proceso (López, 2014).

### 3.3.9 Determinación de betalainas totales por espectrofotometría

La espectrofotometría de absorbancia es una técnica analítica que permite determinar la concentración de un compuesto en solución. Cuando un haz de luz de una determinada longitud de onda de intensidad,  $I_0$ , incide perpendicularmente sobre una disolución de un compuesto químico que absorbe luz o cromóforo, el compuesto absorberá una parte de la radiación incidente ( $I_0$ ) y dejará pasar el resto ( $I_T$ ), por lo que  $I_0 = I_a + I_T$ . Para realizar estos experimentos

se emplea un espectrofotómetro, en el que se puede seleccionar la longitud de onda de la luz que pasa por una solución y medir la cantidad de luz absorbida por la misma, ya que la longitud de onda de la radiación que una molécula puede absorber depende de su estructura atómica y de las condiciones del medio. La absorción que a distintas longitudes de onda presenta una molécula, representa su espectro de absorción y constituye una señal de identidad de la misma, por lo que esta técnica permite medir la concentración e identidad de los pigmentos presentes en un alimento, acorde con la ley de Lambert-Beer que expresa la relación entre absorbancia de luz monocromática (de longitud de onda fija) y la concentración de un cromóforo en solución mediante la siguiente ecuación:

$$A = \log I/I_0 = \varepsilon \cdot c \cdot l$$

Donde:

A = absorbancia del cromóforo en solución.

$\varepsilon$  = constante de proporcionalidad o coeficiente de extinción.

l = distancia que atraviesa la luz a través de la solución del cromóforo en cm.

c = concentración en moles.

La legislación mexicana permite el uso de más de 50 colorantes o pigmentos, siendo la mayoría de origen natural. Estos pigmentos naturales pueden ser de origen vegetal, como la clorofila, las antocianinas y las betalaínas; de origen animal como la cochinilla, o de origen mineral como el dióxido de titanio de color blanco (Muñoz, 2003).

### **3.4 Fermentación en vino de frutas**

#### **3.4.1 *Fermentación alcohólica***

El proceso de fermentación alcohólica es el proceso que tiene por finalidad lograr la transformación de un mosto azucarado, hasta el producto alcohólico, en un medio anaerobio y por la acción de la levadura, con la presencia de nutrientes, temperatura, pH y acidez óptima, de

manera que la levadura pueda actuar correctamente sobre los azúcares y la fermentación sea correcta. Los azúcares presentes en la pulpa de las frutas son glucosa y fructosa esencialmente. Durante la fermentación, las levaduras transforman los azúcares en alcohol etílico y dióxido de carbono en una proporción similar (Coronel, 2008).

Bebida alcohólica fermentada, es el producto resultante de la fermentación principalmente alcohólica de materias primas. El cual puede adicionarse de ingredientes y aditivos permitidos en el acuerdo correspondiente de la Secretaría de Salud. Su contenido alcohólico es de 2% a 20% Alcohol Volumen (Secretaría de Economía, 2015).

### **3.5 Levaduras utilizadas en vino de frutas**

Conforme avanza el conocimiento sobre el vino, a través de la funcionalidad de sus levaduras y su posible control biotecnológico, han surgido nuevas líneas de investigación aplicada que pretenden mantener, en una escala de trabajo industrial, el equilibrio biológico inherente a la naturaleza del proceso de vinificación. Todo ello mediante un exhaustivo conocimiento de sus bases fisiológicas y bioquímicas.

De los 100 géneros de levaduras, representados por unas 700 especies, tan solo 13 géneros están relacionados con los procesos de vinificación: *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Hanseniaspora* (y su anamorfo *Kloeckera*), *Kluyveromyces*, *Metschnikowia*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Saccharomycodes*, *Schizosaccharomyces* y *Zygosaccharomyces* (Belda et al., 2014).

#### **3.5.1 *Saccharomyces cerevisiae***

*Saccharomyces cerevisiae*, es una levadura que constituye el grupo de microorganismos más íntimamente asociado al progreso y bienestar de la humanidad; su nombre deriva del

vocablo *Saccharo* (azúcar), *myces* (hongo) y *cerevisiae* (cerveza). Es una levadura heterótrofa, que obtiene la energía a partir de la glucosa y tiene una elevada capacidad fermentativa.

La levadura *S. cerevisiae* es probablemente el microorganismo más ampliamente utilizado por el hombre a través del tiempo; aunque no se tuviera, en un principio, conciencia plena de la participación del microorganismo en la elaboración de diversos alimentos como el pan o las bebidas alcohólicas (Suárez et al., 2016).

*Saccharomyces cerevisiae*, es la levadura que puede utilizarse para el proceso de fermentación de vinos, es comúnmente conocida como levadura panadera en bloque, si es seca debe activarse en agua a 20 °C (Coronel, 2008).

### **3.6 Factores para el crecimiento y desarrollo de la levadura**

De acuerdo con (Suárez et al., 2016), los factores a tener en cuenta para el crecimiento y desarrollo de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, los cuales se describen a continuación:

#### **3.6.1 Presión osmótica**

La nutrición de la levadura es un proceso puramente osmótico, es importante evitar medios hipertónicos o hipotónicos para evitar la plasmoptisis y plasmólisis. El estrés osmótico puede causar una disminución en el volumen celular, afecta, además, la velocidad de fermentación, así como la viabilidad celular.

#### **3.6.2 Temperatura**

Las altas temperaturas ocasionan una disminución de la biomasa, producto de un descenso en el contenido de proteínas, RNA; DNA y aminoácidos libres e induce a la rigidez de

la membrana celular. Temperaturas muy bajas provocan un estado de latencia en la célula, deteniendo su desarrollo.

### **3.6.3 *Desecación***

Es uno de los principales agentes que inhiben las actividades y desarrollo de los microorganismos.

### **3.6.4 *Luz***

En general la luz es perjudicial para los microorganismos que carecen de clorofila, o cualquier otro pigmento que les permita usar la energía de las radiaciones en el proceso de fotosíntesis.

### **3.6.5 *pH***

El pH óptimo en el cual se desarrollan mejor los microorganismos, está entre 4 y 5. Las levaduras tienen la ventaja de soportar, medios más ácidos, que otros microorganismos, lo que es aprovechado en los procesos industriales para mantener el medio controlado de bacterias que puedan competir por el sustrato.

### **3.6.6 *Alcohol***

El efecto del etanol en la célula es una combinación de inhibición del crecimiento y disminución de la viabilidad, puede actuar como inhibidor de la fermentación a partir de un 8%. No es recomendable terminar la fermentación con un grado alcohólico muy elevado.

## ORIGINALIDAD

La originalidad del presente trabajo consiste en comparar la funcionalidad antioxidante entre dos vinos, obtenidos a partir de un proceso de fermentación de los frutos *Stenocereus griseus* rojos y amarillos de la región de Xayacatlán de Bravo, Puebla. Así como, en un análisis comparativo de las características fisicoquímicas y funcionales con respecto al jugo natural para determinar si existe variabilidad.

## MATERIALES Y MÉTODOS

En esta sección se describen las etapas de proceso para la obtención, caracterización y el análisis del jugo fermentado y sin fermentar de la pitaya de mayo *Stenocereus griseus* de la región de Xayacatlán de Bravo, Puebla.

### 5.1 Localización del lugar experimental

El proyecto fue desarrollado en los laboratorios de agroindustrias de la Universidad Tecnológica de la Mixteca (UTM), ubicado en carretera Acatlima Km. 2.5, Acatlima, C.P. 69000, Huajuapán de León, Oaxaca, México, con coordenadas geográficas 17°49'36" N 97°48'15" O, a través de un convenio de colaboración académica, científica y tecnológica entre el Instituto Tecnológico Superior de Acatlán de Osorio, Puebla y la Universidad Tecnológica de la Mixteca.

### 5.2 Obtención de la materia prima

Las pitayas de mayo *Stenocereus griseus* fueron adquiridas con comerciantes locales de la comunidad de Xayacatlán de Bravo, Puebla, localizada en la parte sur del estado de Puebla, sus coordenadas geográficas son los paralelos 18°13'24" y 18°20'06" de latitud norte y los meridianos 97°58'36" y 98°00'06" de longitud occidental, donde se identifican dos climas, clima cálido subhúmedo con lluvias en verano, el cual es el clima predominante y el clima semicálido subhúmedo, con lluvias en verano el cual se identifica en las zonas montañosas del noroeste y centro este, durante el mes de mayo de 2021.

### **5.3 Elaboración del vino de pitaya**

A continuación, se describe el proceso de la elaboración de vino mediante un diagrama de bloques (Apéndice 1), para las dos variedades de pitaya de mayo *Stenocereus griseus* de la región de Xayacatlán de Bravo, Puebla señalando los parámetros considerados para la estandarización del proceso.

#### **5.3.1 Elaboración del biorreactor**

En la elaboración del biorreactor, Apéndice 9, se utilizaron 3 recipientes con la capacidad de 3000 mL, los cuales fueron sellados perfectamente para mantener un sistema anaeróbico dentro de ellos. Para mantener un ambiente controlado se optó por acondicionar a los biorreactores con los componentes que a continuación se describen.

##### **5.3.1.1 Sistema de bombeo**

Se utilizó una bomba peristáltica Marca Jebao Dp-4, la cual se programó para que automáticamente cada h durante el período que duró el proceso, circulara el mosto a través un volumen de 1000 mL de mosto. Esto tuvo la finalidad de homogenizar la muestra y no afectar el rendimiento de la levadura al estar en contacto con todo el líquido, la programación del equipo fue para las tres repeticiones bajo las mismas condiciones.

##### **5.3.1.2 Control de temperatura**

Con un controlador de temperatura y un sensor Marca STC-1000, se monitoreó la temperatura dentro del biorreactor, con la finalidad de asegurar un ambiente adecuado para el crecimiento de las levaduras a  $27\pm 1.5$  °C.

### **5.3.1.3 Liberación de CO<sub>2</sub>**

La acción de las levaduras es transformar el azúcar presente en el mosto, en alcohol y dióxido de carbono. Este último es importante liberarlo del biorreactor para evitar una presurización, por lo cual se utilizó un airlock que tiene la función de actuar como una trampa de aire. Esto permitió liberar el CO<sub>2</sub>, sin la posibilidad de introducir oxígeno.

### **5.3.1.4 Monitoreo de pH**

Durante la fermentación se monitoreó el pH utilizando un potenciómetro, modelo HL473, tomando lectura cada 12 h durante los 6 días del proceso.

### **5.3.1.5 Toma de Muestra**

Se dispuso una conexión en forma de T con una válvula check para no permitir el retorno de líquidos o gases, y de tal forma tomar alícuotas de 10 mL, para determinar el porcentaje de acidez y grados Brix cada 12 h durante el proceso de fermentación.

### **5.3.1.6 Calentador**

Se utilizó un calentador de pecera marca ThermoMINI 30 W, el cual fue controlado, para mantener la temperatura del mosto a  $27 \pm 1.5$  °C.

## **5.3.2 Recepción de la materia prima**

Se realizó la recepción de la materia prima, supervisando parámetros de calidad e inocuidad, grado de maduración, ausencia de daños físicos y microbiológicos, finalmente identificando la coloración del fruto para los posteriores análisis.

### **5.3.2.1 Desespinado**

De manera manual, con ayuda de unas pinzas de plástico, se retiraron las espinas del fruto cuidando no dañarlos físicamente.

### **5.3.2.2 Determinación de las características físicas**

Con un vernier analógico, marca Truper modelo TRU14394, se midió el diámetro polar y ecuatorial de una muestra representativa de las dos variedades de pitaya de mayo *Stenocereus griseus* de la región de Xayacatlán de Bravo, Puebla.

### **5.3.3 Extracción de la pulpa**

Se procedió a retirar la cáscara de las pitayas con la ayuda de un cuchillo para obtener la pulpa del fruto de manera completa.

#### **5.3.3.1 Determinación del rendimiento del fruto.**

Utilizando una báscula marca Ohaus Compass, modelo H-8109, se pesó una muestra representativa de las dos variedades (coloración roja y amarilla) de pitaya de mayo *Stenocereus griseus* de la región de Xayacatlán de Bravo, Puebla, para evaluar el rendimiento, se pesó la fruta completa, la pulpa y la cáscara por separado.

### **5.3.4 Conservación de la materia prima**

Para la conservación de la materia prima se optó por almacenarla a una temperatura de -18 °C, con la finalidad de mantener sus propiedades organolépticas hasta el momento de su procesamiento.

### **5.3.5 Maceración**

Para la maceración de la pulpa se optó por una dilución 1:2 con agua tipo 1 desgasificada, por lo que se midieron 1000 mL de jugo de pitaya de las dos variedades, las cuales se mezclaron con 2000 mL de agua, y los parámetros se ajustaron de acuerdo a lo descrito en la sección siguiente. El procedimiento empleado se basó en el método descrito por Pájaro et al., (2018). Esto tuvo como finalidad obtener un mosto con las condiciones adecuadas para la obtención de un vino de calidad organoléptica, funcional y microbiológica.

#### **5.3.5.1 Corrección de sólidos solubles**

El ajuste de los parámetros del mosto se realizó evaluando la cantidad de sólidos solubles en °Brix. Normalmente, las pitayas no tienen una cantidad de azúcar suficiente como para realizar la fermentación a partir de ella; así que, se optó por agregar azúcar convencional para obtener al final del mezclado e inicio de fermentación un mosto con 21 °Brix. El azúcar añadido se calculó con base a la siguiente fórmula utilizada por (Pájaro et al., 2018):

$$\text{Azúcar añadida} = \frac{P_j (\text{°Bd} - \text{°Ba})}{100 - \text{°Bd}}$$

En donde:

P<sub>j</sub>= Peso del jugo.

°Bd= Grados Brix deseados.

°Ba= Grados Brix actuales.

#### **5.3.5.2 Corrección del pH**

Para mantener estable el pH en el proceso de fermentación, se optó por utilizar como aditivo al ácido cítrico anhidro el cual aporta una cierta sensación de "frescura" y un toque

amargo. Este compuesto también cumple una función estabilizadora del vino terminado. La adición fue de 3 g/L cantidad permitida por la normatividad correspondiente.

### **5.3.5.3 Adición de nutrientes**

La levadura necesita la presencia de nutrientes para que la fermentación sea correcta. Los nutrientes más importantes para las levaduras son el nitrógeno y el fósforo, para ello se debe utilizar la urea y el fosfato de amonio, el primero como suministro de nitrógeno y el segundo de fósforo (Coronel, 2008).

Por ello durante la preparación del mosto se agregó un nutriente para levadura de la marca Plus Cel que contiene Potasio, Sodio, Magnesio, y Calcio necesarios para el proceso de fermentación a una concentración de 1.5 g/L.

### **5.3.6 Fermentación alcohólica**

El mosto base, con los parámetros establecidos anteriormente, se inoculó con la levadura *Saccharomyces cerevisiae* marca RED STAR, activada como se describe en la sección siguiente. Posteriormente, se procedió a colocar el mosto en un biorreactor cerrado herméticamente, el cual tiene una trampa de aire para permitir la liberación de los gases, con la finalidad de mantener las condiciones anaeróbicas, controlar la temperatura entre  $27 \pm 1.5$  °C. El mosto se dejó fermentar hasta que terminó la liberación de CO<sub>2</sub> y se alcanzó la fase de estabilización de los grados brix.

#### **5.3.6.1 Activación de la levadura**

En 30 mL de agua a  $37 \pm 1$  °C, se agregó 0.75 g de levadura *Saccharomyces cerevisiae* marca RED STAR que contiene como emulsificante al monoestearato de sorbitan (E491), cuyo

rendimiento es de más de 10 billones de células vivas por cada gramo, se dejó en reposo durante 20 min para permitir la activación de la levadura.

### **5.3.7 *Descube***

Al término de la fermentación se procedió al descube el cual consistió en separar los residuos de la levadura y los sólidos precipitados en el fondo del recipiente del vino de pitaya de las dos variedades. Esto se llevó a cabo a través de un filtro de algodón, para asegurar la separación de los sólidos de mayor tamaño. El vino se vertió a recipientes esterilizados durante 24 h para proceder a la siguiente etapa.

### **5.3.8 *Trasiego***

En los envases donde se almacenó el vino se formó un depósito de sedimentos, compuesto por sustancias más pesadas que generalmente sedimentan; utilizando algodón, se filtró el líquido a recipientes estériles. Este proceso se realizó cada 24 h por tres ocasiones, para proceder al envasado final.

Con la finalidad de inhibir la acción de las levaduras y el de otros microorganismos, que pudieran alterar las propiedades finales del producto, se procedió una etapa de sulfitado que se describe a continuación.

Para calcular la cantidad de anhídrido sulfuroso, se utilizaron 50 mg/L de metabisulfito de sodio. De acuerdo a lo descrito por (Gutiérrez, 2020). Esto se calculó en relación con la cantidad total o volumen del vino obtenido.

Utilizando como conservador al metabisulfito de sodio grado alimenticio, permite retener las características deseadas de color, sabor, aroma y sanidad del vino.

### **5.3.9 Envasado**

El vino fue envasado en botellas de plástico grado alimenticio, para mantener sus propiedades fisicoquímicas, organolépticas, funcionales y microbiológicas.

### **5.3.10 Almacenamiento**

Las botellas con el producto final son almacenadas a temperatura ambiente para su conservación, protegidas de la luz exterior con papel aluminio.

## **5.4 Determinación de sólidos solubles**

Los sólidos totales en el jugo de las dos variedades (coloración roja y amarilla) de pitaya de mayo *Stenocereus griseus*, se determinaron con un refractómetro de mesa marca ABBE-REF1 a 20 °C y en una escala de 0 a 32%, con el fin de medir el índice de refracción. Los resultados se expresaron en °Brix, los cuales expresan el porcentaje de azúcares presentes en las muestras como se indica en el método 22.024 (AOAC). Utilizando el mismo método se registró el porcentaje de sólidos solubles cada 12 h durante en proceso de fermentación y en el producto final.

## **5.5 Determinación de pH**

Basado en el método 10.035 (AOAC), se midieron 10 mL de muestra del jugo de las dos variedades (coloración roja y amarilla) de pitaya de mayo *Stenocereus griseus*, de los cuales se obtuvo la lectura del pH con la introducción directa del electrodo, el potenciómetro fue previamente calibrado con solución reguladora de 6.86 y 4.01. Posteriormente utilizando el mismo método se midió el pH del mosto base y se monitoreo cada 12 h durante el proceso de fermentación del vino, hasta el pH final del producto.

## 5.6 Acidez titulable

### 5.6.1 Preparación de hidróxido de Sodio al 0.1 N

En un matraz aforado de 1000 mL se agregaron 4.10 g de hidróxido de sodio, se aforó el matraz con agua tipo 1 y se homogenizó la muestra, posteriormente se transfirió la disolución en un recipiente de polietileno, se etiquetó y almacenó a temperatura ambiente para su posterior uso (Apéndice 2).

### 5.6.2 Determinación de la acidez titulable

La acidez se determinó por titulación ácido-base de acuerdo al método 22.060 (AOAC), empleando NaOH 0.1 N en presencia de fenolftaleína como indicador, se consideró como punto de equilibrio de la solución el pH de 8 que corresponde al vire de la fenolftaleína. Se expresó como porcentaje de ácido cítrico.

En un matraz Erlenmeyer de 100 mL, se vertieron 3 mL de muestra y 10 mL de agua destilada. Posteriormente, se adicionaron 3 gotas de indicador de fenolftaleína al 1%. La muestra, se homogenizó y posteriormente se tituló con NaOH 0.1 N, por adición gota a gota desde una bureta hasta observar el cambio de color. Este procedimiento se repitió por separado para las dos variedades de jugo, al igual que para el monitoreo durante el proceso de fermentación cada 12 h hasta obtener el producto final (Apéndice 2). El procedimiento se realizó por triplicado.

Finalmente se realizó la cuantificación de acidez en equivalentes de ácido cítrico (g de ácido cítrico por cada 100 g de muestra). Para la determinación del porcentaje de acidez se utilizó la ecuación siguiente:

$$\% \text{ Ácido Cítrico} = (N * p Eq.* V) / (m) * 100$$

Donde:

N = Normalidad del NaOH (meq/mL).

V = Volumen empleado en la titulación del problema (mL).

p Eq. = Peso equivalente de ácido cítrico = 0.064 g/meq.

m = Muestra (g).

## **5.7 Determinación de la capacidad antioxidante**

### **5.7.1 Extracción de la muestra**

Una vez obtenido el jugo natural de la pitaya y el vino, se procede a centrifugar a 3000 rpm durante 10 min. para obtener el sobrenadante. El sobrenadante es separado del sedimento y refrigerado para la realización de los análisis. Se realizaron todos los análisis en la fase hidrofílica de la bebida (Apéndice 3).

### **5.7.2 Preparación del reactivo FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)**

Basándose en la metodología de propuesta por Benzie and Strain (1999) descrita y realizada por (Mex & Bolívar, 2013), se preparó una solución amortiguadora de acetato 400 mM a pH 3.8, para ello en un matraz volumétrico de 50 mL, se agregaron 103 mg de acetato de sodio trihidratado (AcONa 3H<sub>2</sub>O) y 0.532 mL de ácido acético glacial (AcOH), el matraz se aforó a 25 mL de agua tipo 1.

Se obtuvo la solución 30 mM, 2,4,6-tripiridil-s-triazina (30 mM TPTZ), mediante una solución de ácido clorhídrico; para lo cual, en un matraz volumétrico de 10 mL, se disolvieron 0.1 mL de HCl concentrado, más 93.6 mg de TPTZ y 6 mL de agua tipo 1 desgasificada, se mezclaron y el matraz se aforó a un volumen de 10 mL con agua tipo 1, la disolución TPTZ se filtró a través de un embudo con algodón.

Se preparó una solución 60 mM de cloruro férrico hexahidratado ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ). En un matraz volumétrico de 10 mL se agregaron 162 mg de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  y disolvieron agua tipo 1 hasta en aforo.

La solución FRAP está compuesta en proporción (10:1:1 de Amortiguador: TPTZ: Cloruro férrico), por lo cual se midieron 10 mL de solución amortiguadora de acetato de sodio (pH 3.8), 1 mL de solución 30 mM TPTZ y 1 mL solución 60 mM  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , se agitó en vórtex.

Posteriormente, se tomó una alícuota en relación 1:1 (V/V) de la solución FRAP y el amortiguador de acetato, con la finalidad de diluir el reactivo.

El reactivo fue colocado en un frasco ámbar hasta su utilización. Con excepción del amortiguador de acetato, todos los reactivos fueron preparados cada vez que se requerían (Viuda et al., 2009) (Apéndice 3).

### 5.7.3 Preparación de la curva de calibración

La curva de calibración de Trolox se realizó a partir de una solución patrón de 100  $\mu\text{g/mL}$  de Trolox en metanol al 80% (tabla 13) (Apéndice 3).

Tabla 12.

#### *Concentraciones de Trolox para FRAP*

<b>Concentración (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	<b>mL (1000 <math>\mu\text{g/mL}</math> de Trolox)</b>	<b>Metanol al 80% (mL)</b>
<b>5</b>	0.5	9.5
<b>10</b>	1	9
<b>15</b>	1.5	8.5
<b>20</b>	2	8
<b>25</b>	2.5	7.5
<b>50</b>	3	7

Fuente: (Viuda et al., 2009)

#### 5.7.4 Aplicación del método FRAP

Con base a la metodología descrita por (Rioja et al., 2018; Viuda et al., 2009), y las características de las muestras a analizar, para determinar la capacidad antioxidante, se utilizaron 25 µL de solución FRAP, 25 µL de muestra y 125 µL de agua tipo 1.

Se determinó la absorbancia a una longitud de onda de 595 nm en un lector de microplacas Elx808, marca BioTek (Vermont, USA).

Para cada lectura se tuvo en cuenta la absorbancia de la muestra testigo, por lo cual se realizaron diluciones pertinentes a cada extracto y con ello controlar los intervalos de absorbancia de los testigos y la curva de calibración.

La absorbancia final de las muestras se comparó con la curva estándar de Trolox (0-100 µg /mL) disuelto con metanol al 80%. A partir de la relación de pendientes de extractos de Trolox, se determinó el índice de capacidad reductora (RCI), expresado en mg eq de Trolox/100 g de sólidos secos de pitaya, de acuerdo con la siguiente relación:

$$RCI = \frac{m_1}{m_2}$$

donde  $m_1$  es la pendiente de la capacidad reductora del Trolox [UA/ (mg de Trolox /mL solución)] y  $m_2$  es la pendiente de la capacidad reductora del extracto de cada muestra [UA/ (100 g de sólidos secos de pitaya /mL solución)]. Los valores se calcularon por triplicado y se expresaron como la media  $\pm$  desviación estándar (Apéndice 3).

## **5.8 Determinación de fenoles totales**

### **5.8.1 Preparación de disoluciones**

Antes de preparar las disoluciones para cada experimento, los disolventes se sometieron a sonicación durante 30 min para remover las burbujas de aire, debido a que los compuestos antioxidantes reaccionan con el oxígeno de las burbujas provocando cambios indeseables en los análisis (Espinosa, 2021).

*Disolución Folin Ciocalteau 0.1 M.* En un matraz volumétrico de 10 mL se colocaron 0.5 mL de disolución del reactivo de Folin Ciocalteau 2 M y posteriormente se aforó con agua tipo 1. La disolución se transfirió a un vial ámbar y almacenó a temperatura ambiente.

*Disolución de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0.05 %.* En un matraz volumétrico de 10 mL se colocaron 5 mg de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , después el matraz se aforó con agua tipo 1. La disolución se transfirió a un envase de polietileno y almacenó a temperatura ambiente (Apéndice 4).

### **5.8.2 Disolución patrón de ácido gálico de 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$**

En un matraz volumétrico de 10 mL se colocaron 10 mg de ácido gálico y el matraz se aforó con EtOH acuoso al 90%. Posteriormente, 1 mL de esta disolución se transfirió a un matraz volumétrico de 10 mL y se aforó con EtOH acuoso al 90%.

A partir de esta disolución patrón se prepararon los estándares de ácido gálico a concentraciones de 5, 10, 15, 20 y 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

### **5.8.3 Extracción de los compuestos fenólicos**

Para la determinación de fenoles totales en el jugo de pitaya roja, en tubos Eppendorf de 1.5 mL se colocaron 200  $\mu\text{L}$  de muestra. Posteriormente, a cada tubo se le adicionaron 800  $\mu\text{L}$

de EtOH acuoso al 90%. En el jugo de pitaya amarilla y vino de pitaya roja se tomaron 300  $\mu\text{L}$  de muestra y adicionaron 600  $\mu\text{L}$  de EtOH acuoso al 90%. El vino de pitaya amarilla se utilizó sin diluir. Después, los extractos se llevaron a sonicación durante 30 min para posteriormente centrifugar las muestras a 2000 rpm por 15 min. Los sobrenadantes obtenidos de la centrifugación se filtraron a través de acrodiscos y los filtrados, ricos en compuestos fenólicos, se transfirieron a viales ámbar y almacenaron a 4 °C durante un período de tiempo menor a tres días.

#### **5.8.4 *Reacción colorimétrica***

En una microplaca se colocaron 40  $\mu\text{L}$  de estándares de ácido gálico y extractos por triplicado, junto con 40  $\mu\text{L}$  de reactivo Folin Ciocalteau 0.1 M. Después, la microplaca se colocó en el lector de microplacas y se dejó reposar durante 3 min a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo, la microplaca se agitó a velocidad variable durante 1 min. La microplaca se retiró de lector y se le adicionaron 40  $\mu\text{L}$  de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 0.05%, se colocó en el lector de microplacas y se dejó en reposo durante 30 min a 40 °C. Posteriormente, la microplaca se agitó a velocidad media durante 1 min y se leyó la absorbancia a 750 nm.

A partir de los valores de absorbancia de los estándares de ácido gálico se construyó una curva de calibración y con ella se realizó una regresión lineal que permitió generar una ecuación de calibración para poder expresar el contenido de fenoles totales de las muestras de vino y jugo de pitaya en mg equivalentes de ácido gálico/100 g de masa seca de jugo de pitaya (Apéndice 4).

## 5.9 Determinación de antocianinas

### 5.9.1 Preparación del extracto

En tubos para centrifuga de 15 mL se colocaron 10 mL de jugo de pitaya roja, amarilla y sus respectivos vinos. Posteriormente, se sometieron a un proceso de centrifugación durante 15 min a 4000 rpm. Los sobrenadantes se colocaron en viales de vidrio ámbar y se almacenaron a 4 °C durante un período no mayor a tres días (Apéndice 5).

### 5.9.2 Cuantificación de antocianinas monoméricas totales por el método de pH diferencial

A los extractos del jugo y del vino de pitaya, se les determinó el contenido de antocianinas monoméricas por el método de pH diferencial. Se prepararon dos diluciones diferentes de las muestras, una con una disolución amortiguadora de cloruro de potasio 0.2 M y HCl a pH 1.0, y otra con una disolución amortiguadora de acetato de sodio 1 M a pH 4.5. Las disoluciones se dejaron en reposo durante 15 min para que se equilibraran. Transcurrido este tiempo, 3.5 mL de las disoluciones se transfirieron a una celda de poliestireno de 1 cm de camino de haz y se les realizó una lectura de absorbancia en un espectrofotómetro a 700 y 520 nm. La concentración de las antocianinas monoméricas se calculó con la ecuación siguiente:

$$\text{Antocianinas totales (mg/100 g)} = \frac{A * PM * FD * 100}{\epsilon * l}$$

Donde:

A = Absorbancia

PM = peso molecular de la cianidina-3-glucósido = 449.2 g/mol

FD = Factor de dilución

$\epsilon$  = Absortividad molar de la cianidina-3-glucósido = 26900 g/(mol\*cm)

El valor final de la absorbancia se obtuvo como sigue:

$$A = (A_{\lambda_{vis-max}} - A_{700\text{ nm}})_{pH\ 1.0} - (A_{\lambda_{vis-max}} - A_{700\text{ nm}})_{pH\ 4.5}$$

En donde  $A_{\lambda_{vis-max}}$  es la mayor absorbancia obtenida a pH 1 y pH 4.5, mientras que  $A_{700\text{ nm}}$  es la lectura a 700 nm tanto para pH 1 como pH 4.5.

La concentración final de antocianinas (mg/100g) se calculó con base al volumen de extracto y peso de la muestra. Las determinaciones se realizaron por triplicado (Apéndice 5).

### **5.9.3 Extracción y cuantificación de betalaínas**

Las betalaínas se determinaron de acuerdo a García et al., (2012). Primero, en las muestras de jugo y vino de ambas variedades se calculó la cantidad de masa seca presente. Esta determinación se llevó cabo a partir de muestras frescas de 5 g que se colocaron en crisoles de 50 mL. Previamente, los crisoles se llevaron a peso constante en un horno de secado HSCF-30, a 105 °C. En los crisoles secos se colocaron las muestras a deshidratar, y se llevaron al horno de secado hasta lograr un peso constante de los crisoles con las muestras. A partir de los datos de masa de las muestras frescas y secas se determinó el porcentaje de humedad. Estos valores posteriormente se utilizaron para calcular la concentración de betalaínas presentes en las muestras de jugo y vinos en base seca.

Por otra parte, la preparación de las muestras para llevar a cabo la lectura espectrofotométrica de las absorbancias, consistió en mezclar 1 g de muestra (jugo de pitaya *S. griseus* roja o amarilla) con 6 mL de una mezcla de metanol y amortiguador de Mc Ilvaine de pH 3.55 (Apéndice 6) en una relación 80-20 (v/v). Esta disolución se centrifugó durante 10 min a 3000 rpm. El sobrenadante se transfirió a un matraz volumétrico de 10 mL, previamente cubierto con papel aluminio y el matraz se aforó con la mezcla de metanol y amortiguador de

Mc Ilvaine de pH 3.55. Alrededor de 5 mL de la disolución anterior se centrifugó a 3000 rpm por 10 min. Transcurrido este tiempo se recuperó el sobrenadante, y se colocó en cubetas de poliestireno. Estas cubetas se llevaron al espectrofotómetro y se midió la absorbancia del filtrado a 538 y 483 nm. También se obtuvo la absorbancia de un blanco constituido de metanol acuoso al 80%, el cual se restó a los valores de las absorbancias de las muestras. Estos últimos valores se utilizaron para cuantificar el contenido de betacianinas y betaxantinas, respectivamente (Apéndice 6).

Las muestras se sometieron a diluciones pertinentes para conservar los valores de absorbancia por debajo de una unidad de absorbancia.

Las muestras de vino se diluyeron con metanol al 80% y los jugos con la mezcla de metanol y la solución amortiguadora de Mc Ilvaine de pH 3.55.

La concentración de betalaínas se calculó a partir de la suma de betacianinas y betaxantinas, las cuales se calcularon con la ecuación siguiente:

$$B (mg/g) = \frac{A * Fd * PM * V}{e * P * L}$$

Dónde:

$B$  = contenido de betacianinas o betaxantinas.

$A$  = absorbancia a 538 nm para betacianinas y 483 nm para betaxantina.

$Fd$  = factor de dilución de la muestra al momento de leer en el espectrofotómetro.

$PM$  = peso molecular (Betacianina = 550 g/mol e Betaxantina = 308 g/mol).

$V$  = volumen del extracto (mL).

$e$  = coeficiente de extinción molar (60,000 L/(mol\*cm) para betaninas, 48,000 L/(mol\*cm) para betaxantinas).

$L$  = longitud de la cubeta (1 cm).

$P$  = peso de muestra (g).

### 5.10 Determinación del grado alcohólico

La determinación del grado alcohólico del vino de pitaya de mayo *Stenocereus griseus*, se realizó a partir de la lectura en un areómetro, graduado en unidades de masa volúmica a 20 °C (densímetro) que se introdujo primeramente en el mosto inicial antes de agregar el inóculo y posteriormente se tomó lectura de la densidad del vino joven obtenido, para que, mediante la siguiente fórmula, se valore el porcentaje de alcohol (grados Gay Lussac) presente en el producto.

$$\% \text{ de alcohol} = \frac{\text{Densidad Original} - \text{Densidad Final}}{1000} * 105 * 1.25$$

### 5.11 Análisis estadístico

Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo, para determinar diferencias significativas entre las 4 muestras estudiadas. Los análisis se llevaron a cabo a un nivel de significancia de 0.05. Se realizaron correlaciones de Pearson para determinar el grado de correlación entre las variables estudiadas Apéndice 8.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se detallan los resultados de la obtención, caracterización y el análisis del jugo fermentado y sin fermentar de la pitaya de mayo *Stenocereus griseus* de la región de Xayacatlán de Bravo, Puebla.

### 6.1 Características físicas de la pitaya de mayo *S. griseus*

En la Tabla 13, se muestran los valores obtenidos de las características físicas de las pitayas de mayo *Stenocereus griseus*, para ambas variedades (roja y amarilla), se cuantifico el peso, las dimensiones del diámetro polar y ecuatorial, de una muestra representativa de las pitayas de mayo, que permitieran caracterizar la materia prima utilizada.

Tabla 13.

*Características físicas de la pitaya de mayo Stenocereus griseus.*

<b>Parámetro</b>	<b>Pitaya Roja</b>	<b>Pitaya Amarilla</b>
Masa (g)	152.25 ± 29.14 <sup>a</sup>	158.16 ± 52.81 <sup>b</sup>
D. Polar (cm)	7.90 ± 0.61 <sup>a</sup>	7.95 ± 0.67 <sup>a</sup>
D. Ecuatorial (cm)	5.98 ± 0.39 <sup>a</sup>	5.96 ± 0.49 <sup>a</sup>
Esfericidad (cm)	1.32 ± 0.10 <sup>a</sup>	1.33 ± 0.09 <sup>a</sup>

Fuente: Elaboración propia.

Los datos se expresan como la media de las muestras, del producto de 25 repeticiones ± desviación estándar de la muestra. Las letras después de los valores representan muestras estadísticamente diferentes a partir de un comparativo de medias de la variable correspondiente empleando la prueba de t de Student a un  $\alpha=0.05$ .

La pitaya variedad roja, presenta en términos generales una forma muy cercana a una esfera, lo cual es ratificado por los valores cercanos a uno 1 para esfericidad, siendo éstas de 1.32. Las letras iguales en la tabla indican que esfericidad para ambas variedades es relativamente uniforme para este fruto. La masa de ambas variedades, presentan letras diferentes lo que indica que el peso de los frutos de pitaya puede variar significativamente de un fruto a otro.

Las mediciones realizadas son similares a lo reportado por González, (2006), definiendo al fruto con una forma globosa y ligeramente ovoide de 6 a 11 centímetros de longitud y de 5 a 7 cm de diámetro.

## 6.2 Rendimiento de la pulpa de pitaya de mayo *S. griseus*

El rendimiento de las frutas de pitaya de mayo *Stenocereus griseus*, depende de las condiciones de cultivo, entre ellas el clima, suelo, agua y otros cuidados que influyen en el desarrollo del fruto, en el presente estudio se hizo la evaluación del rendimiento de una muestra significativa para dos coloraciones de pitaya (roja y amarilla), como se muestra en la Tabla 14.

Tabla 14.

*Porcentaje de rendimiento de la pulpa de pitaya de mayo S. griseus.*

<b>Parámetro</b>	<b>Pitaya Roja</b>	<b>Pitaya Amarilla</b>
Masa inicial (g)	152.25 ± 29.14 <sup>a</sup>	158.16 ± 52.81 <sup>b</sup>
Masa pulpa (g)	110.08 ± 23.71 <sup>a</sup>	118.66 ± 37.84 <sup>b</sup>
Masa cáscara (g)	42.17 ± 7.50 <sup>b</sup>	39.50 ± 17.23 <sup>a</sup>
Rendimiento (%)	72.30 ± 0.5 <sup>a</sup>	75.02 ± 0.5 <sup>b</sup>

Fuente: Elaboración propia.

Los datos se expresan como la media de las muestras, del producto de 25 repeticiones ± desviación estándar de la muestra. Las letras después de los valores representan muestras estadísticamente diferentes a partir de un comparativo de medias de la variable correspondiente empleando la prueba de t de Student a un  $\alpha=0.05$ .

El rendimiento de la masa de la pulpa de las muestras de pitaya de mayo estudiadas en el presente trabajo se encuentra en un intervalo del 70 al 75%.

## 6.3 Caracterización fisicoquímica del jugo de pitaya

La caracterización fisicoquímica, correspondiente a los resultados obtenidos del pH, sólidos solubles y acidez titulable, esta última expresada en mili equivalentes de ácido cítrico para el jugo natural extraído de la pitaya roja y amarilla, Tabla 15. A partir de estos resultados se puede

apreciar, que el jugo de la variedad amarilla es mayor cuando la acidez titulable, pH y no muestran diferencia significativa en la cantidad de sólidos solubles.

Tabla 15.

*Propiedades químicas del jugo de dos variedades de S. griseus.*

<b>Parámetro</b>	<b>Pitaya Roja</b>	<b>Pitaya Amarilla</b>
pH	5.78 ± 0.15 <sup>a</sup>	5.92 ± 0.16 <sup>b</sup>
Sólidos solubles (°Brix)	10 ± 0.2 <sup>a</sup>	10 ± 0.2 <sup>a</sup>
Acidez titulable (% de ác. cítrico)	0.096 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.116 ± 0.01 <sup>b</sup>

Fuente: Elaboración propia.

Los datos se expresan como la media de las muestras, del producto de tres repeticiones ± desviación estándar de la muestra. Las letras después de los valores representan muestras estadísticamente diferentes a partir de un comparativo de medias de la variable correspondiente empleando la prueba de t de Student a un  $\alpha = 0.05$ .

Cabe señalar que Ayala & Beltrán, (2005), a diferencia de los resultados obtenidos en el presente trabajo, encontraron diferencias del pH y los sólidos solubles (°Brix) entre las dos variedades de la pitaya estudiadas. Los valores de pH y sólidos solubles para la pulpa amarilla fueron  $5.31 \pm 0.02$ ,  $10.8 \pm 0.53$ , respectivamente; mientras que en la pulpa roja fueron  $\text{pH} = 4.92 \pm 0.24$  y un contenido de sólidos solubles de  $8.13 \pm 0.81$  °Brix.

#### **6.4 Rendimiento del vino de pitaya de mayo *S. griseus***

En ambos tratamientos, se utilizaron los mismos parámetros y condiciones durante la fermentación, por lo cual se hizo un monitoreo de estas variables durante todo el proceso para evaluar el comportamiento de las muestras en función del proceso de fermentación.

El rendimiento del vino está basado en la obtención del líquido final después de eliminar el sedimento formado por la biomasa en el fondo del recipiente y otras impurezas que son eliminadas en el descube y los trasiegos realizados para clarificar el producto.

Existen diferencias no significativas, en el rendimiento final del vino, lo cual corresponde a valores de,  $2670 \pm 50$  mL y  $2650 \pm 50$  mL, para los vinos de la variedad roja y amarilla,

respectivamente. Los datos se expresan como la media de las muestras por triplicado  $\pm$  desviación estándar de la muestra.

## **6.5 Caracterización fisicoquímica del vino joven de pitaya**

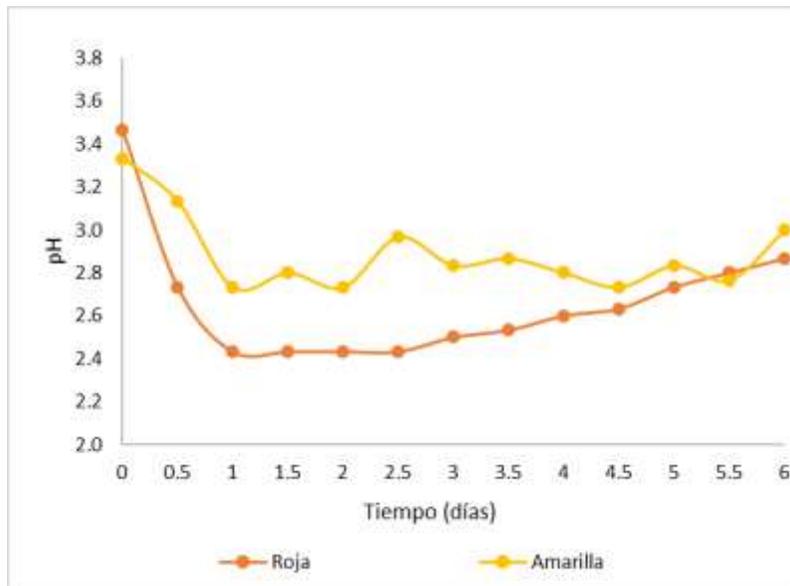
Los resultados de las características fisicoquímicas (pH, acidez titulable y sólidos solubles) para los vinos obtenidos de los dos tratamientos fueron monitoreados cada 12 h, hasta el final del proceso que duró 6 días, y a continuación se describen.

### **6.5.1 pH**

En la Figura 12, se observa el comportamiento del pH durante el proceso de fermentación para ambos tratamientos, con respecto al tiempo, hasta que se alcanzó estado estable en la concentración de sólidos solubles presentes en el vino.

La Figura 12, muestra que en las primeras 12 h, se produjo una disminución drástica del pH, para posteriormente reducir de forma importante la variación. Este comportamiento se debe a que parte del CO<sub>2</sub> producido durante el inicio de la fermentación fue absorbido por el mosto hasta su saturación, provocando una acidificación del medio.

En el caso del mosto de pitaya amarilla se observó un comportamiento menos regular en el pH en función del tiempo que en el mosto de pitaya roja.



Los datos se expresaron como la media de las muestras a partir de tres repeticiones.

*Figura 12.* Comportamiento del pH con respecto al tiempo.

En general, con base en los resultados del monitoreo del pH en el en el mosto de pitaya amarilla, se observaron variaciones importantes en el día 2.5, donde se registró un incremento del pH, el cual se atribuye a un incremento de temperatura temporal que posiblemente afectó la actividad de las levaduras y la concentración de CO<sub>2</sub> en ese momento.

De acuerdo a un análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo, se realizó un comparativo del comportamiento del pH entre los dos tratamientos, Tabla 16. Los resultados indican que existe una diferencia significativa de los valores del pH entre cada una de las repeticiones, debido a que el fermentador se operó con un sistema de recirculación de mosto se de forma intermitente. Esto provocó cambios de temperatura que influyeron en los cambios pH durante el tiempo que duró el proceso de fermentación. Esto consecuentemente también influyó en las variaciones de pH entre tratamientos.

Tabla 16.

*Análisis de varianza, comparación de medias en el pH*

<b>Origen de las variaciones</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Promedio de los cuadrados</b>	<b>F</b>	<b>Valor de <i>p</i></b>	<b>Valor crítico para F</b>
Repeticiones	3.38	2	1.69	56.64	4.76E-15	3.14
Tratamientos	1.33	1	1.33	44.73	5.79E-09	3.99
Interacción Dentro del grupo	1.05	2	0.53	17.64	7.31E-07	3.14
Total	7.73	71				

Fuente: Elaboración propia.

Nota: Los datos se expresan como la media de las muestras de tres repeticiones.

Es importante señalar que, a pesar de existir una diferencia significativa de pH entre repeticiones y tratamientos, los procesos de fermentación se ajustaron a condiciones propicias para la acción de las levaduras. Esto aseguró una degradación de los azúcares y evitó el riesgo de una contaminación por bacterias ajenas a la fermentación alcohólica (Romero, 2012).

El pH promedio final de los vinos de pitaya roja y amarilla fueron 2.8 a 3.1, respectivamente. Estos valores fueron cercanos a los reportados por Leyva (2009), para licores de mora, pH = 3.52.

Ramírez & Pedroza, (2001) reportaron que el crecimiento de la levadura y la velocidad de fermentación no son afectadas por la variación de pH en el intervalo de 3.5 a 6.0 en el mosto, y a valores de pH de entre 3.05 y 3.50, se logra alcanzar el máximo de rendimiento.

La levadura *Saccharomyces cerevisiae* crece más rápido a velocidades mayores que las bacterias a pH  $\approx$  3, ofreciendo la ventaja de operar una fermentación alcohólica sin contaminación bacteriana. La sacarosa es más sensible al pH que la glucosa, ya que la inversión de la sacarosa se acelera a pH bajos. Por lo tanto, es muy recomendable el uso de este azúcar en los procesos de producción de bebidas fermentadas a pH bajos, tal como los del presente estudio.

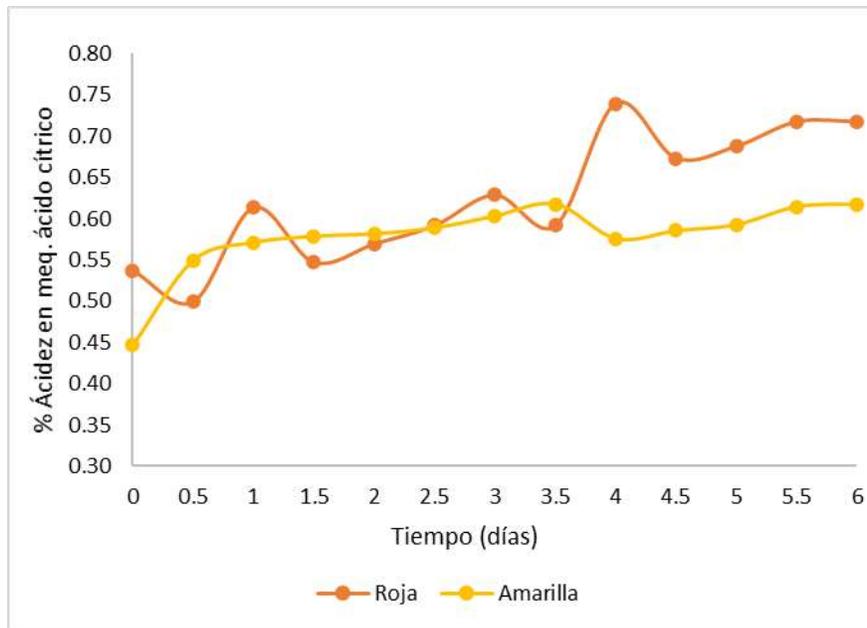
Respecto a la evaluación del pH, en un estudio de la fermentación alcohólica de miel, ajustaron el nivel del pH en el mosto inicial a un valor alrededor de 3.6 y al finalizar la fermentación, este valor fue de 3.4 (Romero y Acosta, 2012). Este es un pH que está dentro del intervalo recomendado ( $\text{pH} = 2.8\text{-}3.8$ ) en la normatividad para bebidas tipo vino.

### **6.5.2 Acidez titulable**

La Figura 13, indica el comportamiento de la acidez titulable durante el proceso de fermentación de los mostos de jugos de pitaya roja y amarilla. La acidez titulable se expresó en equivalentes de ácido cítrico.

En el mosto de pitaya roja se observó un ligero incremento en el porcentaje de acidez titulable. Cabe señalar que cada punto en la gráfica corresponde a la media de tres repeticiones. Los resultados para el mosto de pitaya roja muestran una variación en el día 1 y 4, la cual se atribuye a un incremento de temperatura temporal que posiblemente afectó la actividad de las levaduras y la concentración de  $\text{CO}_2$  durante esas mediciones. Sin embargo, transcurrido ese tiempo la acidez del mosto se estabilizó, Figura 13.

La acidez titulable de los vinos jóvenes de pitaya, se encuentran en el intervalo de  $0.55 \pm 0.05$  a  $0.70 \pm 0.05$  % (expresada como equivalentes de ácido cítrico), estos valores comparados con lo que reporta (Leyva, 2009), de  $0.66 \pm 0.06$  a  $1.48 \pm 0.06$ % (expresada como equivalentes de ácido cítrico) para licores de mora, son menores, la diferencia pueden atribuirse al estado de madurez de la pitaya empleada, la acidez puede tener un efecto en la calidad organoléptica y en la regulación del pH de los vinos. Además, el pH y la acidez no presentan una relación inversa, lo que se debe a que aparte del ácido cítrico (como se expresan los resultados), se encuentran otros ácidos que contribuyen en la regulación del pH en los licores como el ácido málico y tartárico (Leyva, 2009).



Los datos se expresaron como la media de las muestras a partir de tres repeticiones.

*Figura 13.* Comportamiento de la acidez titulable con respecto al tiempo.

De acuerdo a un análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo, se realizó una comparación del comportamiento del porcentaje de acidez entre los dos tratamientos, Tabla 17.

Los resultados indican que no existe una diferencia significativa del porcentaje de acidez entre cada una de las repeticiones. Este comportamiento, distinto al del pH, se debe a que la medición de la concentración de ácido en el mosto es independiente de la temperatura. También se determinó que no hay diferencia significativa entre los dos tratamientos estudiados (mostos de pitaya roja y amarilla).

Los resultados obtenidos para los mostos de pitaya roja y amarilla similares a los obtenidos por otros autores. En relación a esto, Salazar, (2006), reportó en vinos de tuna una acidez total inicial de 0.35 % (expresada como equivalentes de ácido cítrico) y una final de 0.4 %.

Tabla 17.

*Análisis de varianza, comparación de medias en el % de acidez.*

<b>Origen de las variaciones</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Promedio de los cuadrados</b>	<b>F</b>	<b>Valor de p</b>	<b>Valor crítico para F</b>
Repeticiones	0.002	2	0.001	0.26	0.77	3.14
Tratamientos	0.014	1	0.014	3.76	0.06	3.99
Interacción	0.002	2	0.001	0.20	0.82	3.14
Dentro del grupo	0.253	66	0.004			
Total	0.271	71				

Fuente: Elaboración propia.

Los valores se expresan como la media de las muestras de tres repeticiones.

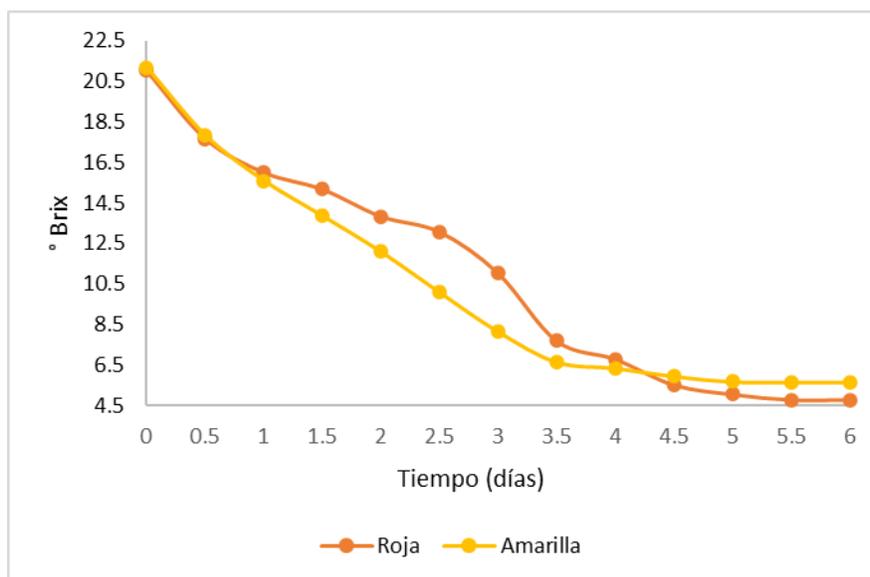
La calidad en un vino se debe en gran parte a su acidez, ya que ésta determina sus características sensoriales, tales como el aroma debido a la esterificación de alcoholes. Ochoa & García, (2012), reportaron la acidez titulable de diferentes jugos fermentados de pitahaya (*Hylocereus spp*). Los resultados del estudio mostraron que la acidez en el jugo fermentado de pitahaya roja  $1.00 \pm 0.1$  % fue mayor que el de pitahaya blanca  $0.91 \pm 0.1$  % y rosa  $0.66 \pm 0.1$  % (expresado en equivalentes de ácido cítrico).

Fernández et al. (2009), citados por Ochoa & García, (2012), reportaron que los vinos tintos tienen mayor acidez que los vinos blancos, y que esto depende de las propiedades intrínsecas de los vinos tintos. Probablemente el incremento de la acidez titulable se deba al valor de acidez titulable que presentó el jugo antes de la fermentación.

### **6.5.3 Sólidos solubles**

En la Figura 14, se observa el comportamiento del nivel de los sólidos solubles medidos en ° Brix, durante el proceso de fermentación para ambos tratamientos, con respecto al tiempo, hasta que se alcanzó, el estado estable en la concentración de sólidos solubles presentes en el vino.

La fermentación de la pitaya roja y amarilla, mantiene un de sólidos solubles decreciente en función del tiempo. Esto se debe a la cantidad de levadura utilizada y la concentración de sólidos solubles (°Brix), iniciales en el mosto. Cabe señalar que cada punto en la gráfica corresponde a la media de tres repeticiones.



Los datos se expresaron como la media de las muestras a partir de tres repeticiones.

*Figura 14.* Comportamiento de los sólidos solubles con respecto al tiempo.

De acuerdo a un análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo, se realizó una comparación del comportamiento de la cantidad de sólidos solubles entre los dos tratamientos, Tabla 18.

Los resultados indican que no existe una diferencia significativa en los °Brix entre cada una de las repeticiones, debido a que el comportamiento es muy similar durante la fermentación para ambos tratamientos, de igual forma se determina que, no hay diferencia significativa entre cada uno de los tratamientos (variedad roja y amarilla).

La disminución en los sólidos solubles se debe a la transformación de azúcares solubles a etanol y CO<sub>2</sub>. Las levaduras son las responsables de esta transformación y el resultado se

atribuye a que las levaduras de uso industrial para vinificación están más preparadas genéticamente y con mejor adaptación que las utilizadas para panificación.

Tabla 18.

*Análisis de varianza, comparación de medias en los sólidos solubles*

<b>Origen de las variaciones</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Promedio de los cuadrados</b>	<b>F</b>	<b>Valor de p</b>	<b>Valor crítico para F</b>
Repeticiones	1.086	2	0.543	0.025	0.975	3.135
Tratamientos	7.540	1	7.540	0.351	0.555	3.986
Interacción	1.966	2	0.983	0.045	0.955	3.135
Dentro del grupo	1416.415	66	21.460			
Total	1427.009	71				

Fuente: Elaboración propia.

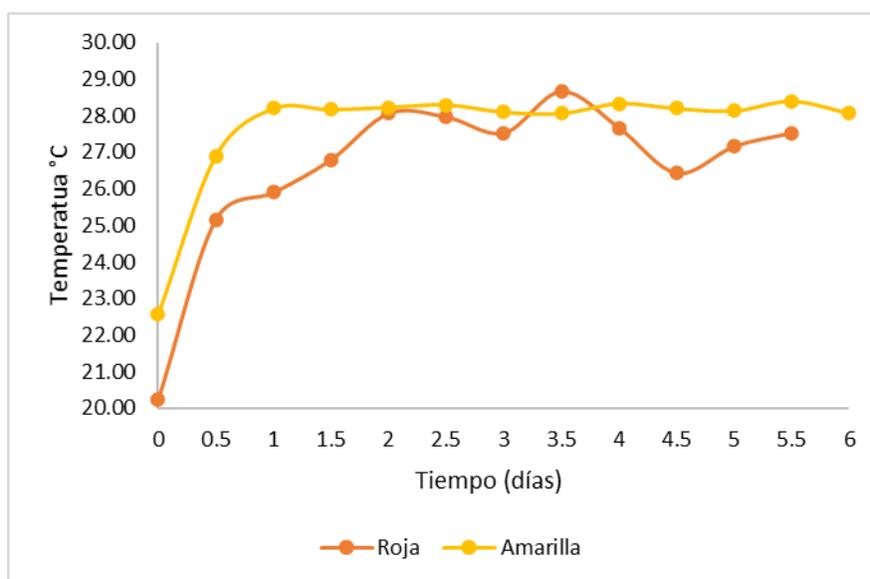
Los datos se expresan como la media de las muestras de tres repeticiones.

Las muestras de mosto de pitaya en el presente estudio se ajustaron a un contenido de sólidos solubles de 21 °Brix iniciales para ambos tratamientos y valores finales de  $5 \pm 0.5$  °Brix. El comportamiento es muy similar al registrado por otros trabajos, donde principalmente, se depende de la concentración de azúcares y variedad de levadura utilizada, (Lucero, 2015), pudo observar diferencias ( $P > 0.05$ ) a través del tiempo de fermentación en todos los tratamientos de la fermentación del vino de fresa, que disminuyeron su contenido de °Brix.

Salazar, (2006), reportaron un contenido de sólidos solubles iniciales de 15 °Brix al inicio de la fermentación de mosto de tuna. Realizaron la fermentación con *Saccharomyces cerevisiae*, durante un período 7 días. Reportaron un contenido de sólidos solubles final de 3 °Brix. Este proceso se monitoreó a partir de la latencia de la vigorosidad de la producción de CO<sub>2</sub> y por el olor agradable alcanzado, en vino de tuna.

#### 6.5.4 Temperatura de fermentación

Durante el proceso de fermentación se mantuvo el control de la temperatura a  $27 \pm 1.5$  °C, mostrando el comportamiento con ligeras variaciones para el mosto de la pitaya roja, Figura 15. Esta gráfica muestra que no hay diferencias significativas en entre ambos tratamientos, durante todo el proceso de fermentación. Condición indispensable para mantener una adecuada la acción de las levaduras.



Los datos se expresaron como la media de las muestras a partir de tres repeticiones.

Figura 15. Comportamiento de la temperatura con respecto al tiempo.

Gráficamente se muestra un comportamiento constante de la temperatura durante el proceso de fermentación para ambos tratamientos, sin embargo, en ciertos puntos cuando se tomó lectura, se notó una ligera variación, como en el caso del día 4.5 de la fermentación, en el que la temperatura del mosto de la pitaya roja disminuyó, esto se debió a la recirculación de los mostos; sin embargo, los límites establecidos para una adecuada fermentación, en todas las repeticiones no fueron sobrepasados.

Un análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo, permitió realizar un comparativo del comportamiento de la temperatura entre los dos tratamientos, Tabla 19.

Tabla 19.

*Análisis de varianza, comparación de medias del monitoreo de temperatura.*

<b>Origen de las variaciones</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Promedio de los cuadrados</b>	<b>F</b>	<b>Valor de p</b>	<b>Valor crítico para F</b>
Repeticiones	3.048	2	1.52	1.30	0.27737	3.14
Tratamientos	12.836	1	12.84	11.01	0.00147	3.99
Interacción	2.574	2	1.29	1.10	0.33741	3.14
Dentro del grupo	76.915	66	1.17			
Total	95.373	71				

Fuente: Elaboración propia.

Los datos se expresan como la media de las muestras de tres repeticiones.

Los resultados indican que no existe diferencia significativa en la temperatura entre cada una de las repeticiones, debido a que el comportamiento es muy similar durante la fermentación, sin embargo, debido al margen de control de temperatura  $\pm 1.5$  se obtiene que si hay diferencia significativa entre cada uno de los tratamientos (variedad roja y amarilla).

A pesar de la diferencia significativa entre la temperatura utilizada para la fermentación entre los dos tratamientos, que se generó debido al comportamiento del medio exterior y la facilidad de intercambio de calor que existe con el material de los recipientes donde se generó la fermentación, no se alteró la eficiencia de la levadura utilizada. Esto se debió a la variación de temperatura programada, y concuerdan con los resultados reportados por Coronel, (2008). En ese estudio se menciona que la temperatura durante la fermentación, debe controlarse, debido a que durante el proceso se produce un relativo aumento de esta variable. Esto se atribuye a que la transformación de los azúcares involucra una reacción exotérmica, es decir un desprendimiento de calor. Cabe señalar que la temperatura óptima para la fermentación oscila

entre 24 y 32°C siendo 27 ° C la más adecuada. Si la temperatura es muy baja, la fermentación es lenta, si la temperatura excede de los 35°C se inhiben parcialmente las levaduras y si esta aumenta por encima de los 40 °C, la fermentación se detiene.

#### **6.5.5 Grado alcohólico**

Los resultados obtenidos del grado alcohólico son de  $12.38 \pm 0.26$  % para el vino de variedad roja y  $12.17 \pm 0.07$ % para la pitaya amarilla. Para realizar un análisis comparativo del porcentaje de alcohol entre los dos tratamientos, se llevó a cabo un análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo, Tabla 20. Los resultados del ANOVA indican que no existe una diferencia significativa en el contenido de alcohol entre los vinos de las dos variedades de pitaya y tampoco entre las repeticiones de cada tratamiento. Esto se debe a que las condiciones establecidas en el proceso de fermentación se controlaron cuidadosamente, incluyendo el contenido de sólidos solubles iniciales, 21 °Brix, y la acción de la levadura *Saccharomyces Cerevisae* marca RED STAR para ambos tratamientos. Esto coincide con lo reportado por diversos autores donde señalan la estricta relación que existe entre los sólidos solubles presentes en el mosto y el tipo de levadura utilizada durante la fermentación para valorar el rendimiento del porcentaje de alcohol final en los vinos.

Lucero, (2015) observó que la interacción entre levadura, sólidos solubles iniciales y el tiempo tuvieron efecto sobre la generación de alcohol, logrando un contenido de alcohol de  $10.20 \pm 0.72$  %, utilizando la levadura Fermiline Bio a 20 °Brix iniciales.

Ochoa & García, (2012) reportaron que el contenido de alcohol en los diferentes jugos fermentados de pitahaya se encuentra muy por debajo de los obtenidos en otros fermentados, teniendo valores de,  $3.9 \pm 0.1$ ,  $3.0 \pm 0.2$ ,  $2.9 \pm 0.2$  % en pitahaya roja, rosa y blanca,

respectivamente, atribuyendo que el menor grado alcohólico se debe al contenido de sólidos solubles totales de 15 °Brix al iniciar la fermentación.

Tabla 20.

*Análisis de varianza, comparación de medias en el porcentaje de alcohol.*

<b>Origen de las variaciones</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Promedio de los cuadrados</b>	<b>F</b>	<b>Valor de p</b>	<b>Valor crítico para F</b>
Repeticiones	0.041	2	0.020	0.37	0.72	19
Tratamientos	0.069	1	0.069	1.24	0.37	18.51
Error	0.110	2	0.055			
Total	0.221	5				

Fuente: Elaboración propia.

Los datos se expresan como la media de las muestras de tres repeticiones.

Los porcentajes de grado alcohólico obtenidos en este estudio, se encuentran dentro de lo establecido por NOM-142- SSA1-1995 establecida para vinos, vinos espumosos y generosos (10-20 % de alcohol).

## **6.6 Caracterización funcional del jugo y del vino de pitaya de mayo *S. griseus***

### **6.6.1 Capacidad antioxidante**

El método FRAP se empleó para evaluar la capacidad antioxidante en función de la capacidad de los extractos para reducir el complejo [Fe (III) (TPTZ)]<sup>3+</sup>. Los resultados encontrados, se muestran en la Tabla 21, donde se tiene que el extracto del jugo y vino de pitaya roja, presentan la mayor capacidad antioxidante por este método, con valores de  $421.85 \pm 8.63$  y  $350.47 \pm 0.86$  en mg eq de Trolox/100 g masa seca de jugo de pitaya, respectivamente.

No existen reportes directos acerca de la aplicación del método FRAP, en la determinación de la capacidad antioxidante en frutos del género *Stenocereus griseus*.

Tabla 21.

*Capacidad antioxidante (mg eq de Trolox /100 g de masa seca de jugo de pitaya) en el jugo y vino de dos variedades de pitaya de mayo S. griseus.*

<b>Tratamientos</b>	<b>Capacidad Antioxidante</b>
JR	421.85 ± 8.63
VR	350.47 ± 0.86
JA	276.46 ± 0.56
VA	226.55 ± 5.06

Fuente: Elaboración propia. **JR:** Jugo de pitaya roja, **VR** vino de pitaya roja, **JA** Jugo de pitaya amarilla, **VA** vino de pitaya amarilla.

Los resultados se expresan como la media de las muestras, específicamente en base a la masa seca de la pitaya utilizada, por triplicado ± desviación estándar.

García et al., (2012), describieron que las betacianinas son antioxidantes más potentes que las betaxantinas y estas últimas son las predominantes en la pitaya naranja. Sin embargo, el poder antioxidante de *S. griseus* H. también puede atribuirse a los compuestos fenólicos presentes en sus frutos, y aunque están en menor proporción que las betalaínas se consideran potentes antioxidantes (Torres et al. 2011).

Ochoa et al, (2012), reportó que la fermentación del jugo de pitahaya incrementó el contenido de compuestos fenólicos (variando de 45.31 a 51.38 mg de ácido gálico/100 mL de jugo, en pitahaya roja), y por ende la capacidad antioxidante.

Teniendo en cuenta que los resultados mostrados en el presente estudio corresponden solo a la masa seca de jugo de pitaya utilizada, se confirma una retención del 83.07 % y 81.74 % de la capacidad antioxidante para los vinos obtenidos de pitaya roja y amarilla, respecto al jugo natural.

Mediante un comparativo de pares de medias Tabla 22, por la prueba de t Student para dos muestras suponiendo varianzas iguales, se observa que no existe diferencia significativa entre el porcentaje de retención y se acepta la hipótesis nula que afirma que la retención de la capacidad antioxidante en los dos tratamientos es estadísticamente igual.

Tabla 22.

*Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales, en el porcentaje de retención de la capacidad antioxidante.*

	<b>V. Rojo</b>	<b>V. Amarillo</b>
Media	83.07	81.74333
Varianza	0.0637	0.793033
Observaciones	3	3
Varianza agrupada	0.428366667	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	<b>2.482559193</b>	
P(T<=t) una cola	0.034012152	
Valor crítico de t (una cola)	2.131846786	
P(T<=t) dos colas	0.068024303	
Valor crítico de t (dos colas)	<b>2.776445105</b>	

Fuente: Elaboración propia.

Los datos se expresan como la media de las muestras, del producto de tres repeticiones  $\pm$  desviación estándar de la muestra, se empleó la prueba de t de Student a un  $\alpha= 0.05$ .

### 6.6.2 Contenido de fenoles solubles totales

El contenido de fenoles solubles totales, fue determinado por el método de Folin Ciocalteau, para ello se preparó una curva de calibración con ácido gálico Apéndice 7, los resultados indican que en el jugo y vino de la pitaya roja, la concentración de fenoles totales fue mayor ( $P \leq 0.05$ ) que en el jugo y vino de la pitaya amarilla, como se muestra en la Tabla 23.

Tabla 23.

*Contenido de fenoles totales (mg EAG /100 g de masa seca de jugo de pitaya) en el jugo y vino de dos variedades de pitaya de mayo S. griseus.*

<b>Tratamientos</b>	<b>Fenoles Totales</b>
JR	639.63 $\pm$ 9.04
VR	444.50 $\pm$ 8.45
JA	308.92 $\pm$ 2.53
VA	190.67 $\pm$ 2.52

Fuente: Elaboración propia. **JR**: Jugo de pitaya roja, **VR** vino de pitaya roja, **JA** Jugo de pitaya amarilla, **VA** vino de pitaya amarilla.

Los resultados se expresan como la media de las muestras, específicamente en base a la masa seca de la pitaya utilizada, por triplicado  $\pm$  desviación estándar.

Los resultados para todas las muestras se encuentran expresadas en mg equivalentes de ácido gálico por cada 100 g de muestra seca de jugo de pitaya, sin diluir en el caso de los vinos.

El proceso de fermentación permitió una retención del 69.5 % de fenoles totales para el vino de pitaya roja y del 61.7 % para el vino de pitaya amarilla. Esto demuestra que el contenido de fenoles solubles totales de pitaya roja es alto.

Mediante un comparativo de pares de medias, Tabla 24, por la prueba de t de Student para dos muestras suponiendo varianzas iguales, se observa que existe diferencia significativa entre los porcentajes de retención, por lo cual se rechaza la hipótesis nula, afirmando que la retención del contenido de fenoles totales en los dos tratamientos es estadísticamente diferente. A pesar de la diferencia, los resultados muestran un rendimiento por encima del 60 % lo cual asegura, que el tratamiento, fue sometido a las mismas condiciones de fermentación, y que en la variedad amarilla se encuentran compuestos ligeramente más sensibles a la temperatura que provocan con mayor facilidad su degradación.

Tabla 24.

*Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales, en el porcentaje de retención del contenido de fenoles totales.*

	<b>V. Rojo</b>	<b>V. amarillo</b>
Media	69.50	61.70
Varianza	0.04	0.44
Observaciones	3.00	3.00
Varianza agrupada	0.24	
Diferencia hipotética de las medias	0.00	
Grados de libertad	4.00	
Estadístico t	<b>19.57</b>	
P(T<=t) una cola	0.00	
Valor crítico de t (una cola)	2.13	
P(T<=t) dos colas	0.00	
Valor crítico de t (dos colas)	<b>2.78</b>	

Fuente: Elaboración propia.

Los datos se expresan como la media de las muestras, del producto de tres repeticiones  $\pm$  desviación estándar de la muestra, se empleó la prueba de t de Student a un  $\alpha= 0.05$ .

Los resultados se encuentran por encima a lo reportado por García et al., (2012) en pitaya roja donde se determinaron  $166.5 \pm 14.40$  mg equivalentes de ácido gálico/100 g de pulpa seca, y en pitaya naranja  $52.8 \pm 3.8$  mg equivalentes de ácido gálico/100 g de pulpa seca.

Respecto a estudios del contenido de fenoles totales en frutos de la familia *Cactaceae*, Ochoa & García, (2012), encontraron que el contenido de compuestos fenólicos de los jugos frescos y fermentados de tres variedades de pitahaya, es estadísticamente mayor en la pitahaya de pulpa roja ( $45.3 \pm 4.3$  mg de ácido gálico/100 mL de muestra), seguido de la pitahaya de pulpa rosa y blanca con valores de  $32.1 \pm 0.5$  y  $24.6 \pm 0.9$  mg ácido gálico/100 mL de jugo, respectivamente.

Sin embargo, el contenido de fenoles totales, demostrado tanto en jugo fresco y fermentado en el presente estudio, es menor al de las variedades estudiadas de *Stenocereus griseus* por Corzo et. al. (2017), que se encuentra en un intervalo de entre 1482 a 2006 mg eq. ácido gálico/100g de muestra seca.

García et al., (2013), demostraron al igual que en los estudios anteriores que el contenido total de fenoles solubles de las frutas de pitaya resultó mayor ( $P \leq 0.05$ ) en el material rojo ( $160 \pm 0.2$  mg GAE/ 100g muestra fresca) que en el naranja ( $120 \pm 0.2$  mg GAE/g muestra fresca). Esto demuestra que el contenido de fenoles en los frutos de la familia de las cactáceas puede ser variable. Por ejemplo, García et al., (2017), en su investigación identificó a los compuestos fenólicos que en su mayoría correspondió a derivados del ácido hidroxicinámico, flavonoles y flavanonas, concluyendo que contenido fenólico fue mayor en *S. stellatus* que en *S. pruinosus*. Por lo que, el contenido de fenoles solubles de las frutas de pitaya puede ser comparado con el contenido fenólico de otras frutas, que se reconocen como una buena fuente de estos compuestos, como la mora (100-400 mg/g de peso seco) y el arándano (210 mg/g de peso seco).

### 6.6.3 Determinación de antocianinas

El contenido de antocianinas totales en el jugo y vino de la pitaya roja fue mayor ( $P \leq 0.05$ ) que en el jugo y vino de la pitaya amarilla como se muestra en la Tabla 25. Con base en estos resultados se puede indicar que en el caso de los jugos fermentados de pitaya presentaron una retención del 73.26 % y 70.78% para pitaya roja y amarilla, respectivamente, en el contenido de antocianinas a comparación de los jugos naturales, aunque valores inferiores en comparación a la especie *Hylocereus undatus* y a bebidas fermentadas de otras frutas con la misma coloración

El contenido de antocianinas totales calculadas, en el presente trabajo indican una diferencia significativa respecto a los valores reportados para la cáscara de pitahaya *Hylocereus undatus*, donde se presentó un valor medio de 323.90 mg eq de cianidina 36-glucósido/100 g de peso fresco de muestra (Figuroa et al., 2011).

Al igual que el contenido de antocianinas monoméricas totales en los diferentes licores de mora, que se encuentran dentro de un intervalo de  $3.56 \pm 0.19$  a  $76.95 \pm 1.20$  mg eq de cianidina 3-glucósido/100 mL. Esta variabilidad en el contenido de antocianinas puede deberse, en gran parte, al proceso de elaboración, el estado de madurez del fruto y al tiempo de almacenamiento (Leyva, 2009).

Tabla 25.

*Contenido (en mg de cianidina 3-glucósido/100 g de masa seca de jugo de pitaya) de antocianinas totales en el jugo y vino de dos variedades de pitaya de mayo S. griseus.*

<b>Tratamientos</b>	<b>Antocianinas Totales</b>
JR	$76.12 \pm 0.33$
VR	$55.77 \pm 0.56$
JA	$61.00 \pm 0.17$
VA	$43.18 \pm 0.13$

Fuente: Elaboración propia. **JR**: Jugo de pitaya roja, **VR** vino de pitaya roja, **JA** Jugo de pitaya amarilla, **VA** vino de pitaya amarilla.

Los resultados se expresan como la media de las muestras, específicamente en base a la masa seca de la pitaya utilizada, por triplicado  $\pm$  desviación estándar.

En el presente estudio, se confirmó por primera vez la presencia de antocianinas monoméricas totales en frutos de pitaya roja y amarilla. A pesar de que, en diversos estudios, se menciona que betalainas y las antocianinas son mutuamente excluyentes y nunca se han encontrado coexistiendo en un mismo tejido vegetal, (Nazareno, 2013).

En un estudio reportado por (DiCYT, 2013) se llevó a cabo una evaluación del perfil de pigmentos de cactáceas por cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) con un detector de arreglo de fotodiodos. El estudio confirmó que las frutas de las cactáceas contienen antocianinas.

A los resultados del porcentaje de retención de antocianinas en los vinos de pitaya se les realizó un comparativo de pares de medias, Tabla 26, por la prueba de t de Student para dos muestras suponiendo varianzas iguales. El resultado del análisis comparativo indica que existe diferencia significativa, con un nivel de significancia del 0.05 %, entre los porcentajes de retención, por lo cual se rechaza la hipótesis nula, afirmando que la retención del contenido de antocianinas monoméricas en los dos tratamientos es estadísticamente diferente.

Tabla 26.

*Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales, en el porcentaje de retención del contenido de antocianinas monoméricas totales.*

	<b>V. Rojo</b>	<b>V. amarillo</b>
Media	72.26	70.78
Varianza	0.2433	0.1876
Varianza agrupada	0.21545	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	<b>3.905117409</b>	
P(T<=t) una cola	0.008732865	
Valor crítico de t (una cola)	2.131846786	
P(T<=t) dos colas	0.01746573	
Valor crítico de t (dos colas)	<b>2.776445105</b>	

Fuente: Elaboración propia.

Los datos se expresan como la media de las muestras, del producto de tres repeticiones  $\pm$  desviación estándar de la muestra, se empleó la prueba de t de Student a un  $\alpha= 0.05$ .

#### 6.6.4 Cuantificación de betalaínas

El contenido de betalaínas totales (betacianinas y betaxantinas) en el jugo y vino de la pitaya roja fue mayor ( $P \leq 0.05$ ) que en el jugo y vino de la pitaya amarilla como se muestra en la Tabla 27.

Los valores de betalaínas en frutos de pitaya son superiores a los reportados por García et al., (2012), donde señalan que el contenido de betalaínas totales en la pulpa de la pitaya roja ( $347.3 \pm 21$  mg/ 100 g de materia seca) fue mayor que en la pulpa de la pitaya naranja ( $215.0 \pm 36.2$  mg/ 100 g de materia seca). En la pitaya roja predominaron las betacianinas en tanto que en la pitaya naranja fueron las betaxantinas.

Tabla 27.

*Contenido (en mg/100 g de masa seca de jugo de pitaya) de betalaínas totales, betacianinas y betaxantinas en el jugo y vino de dos variedades de pitaya de mayo S. griseus.*

Tratamientos	Betalaínas Totales	Betacianinas	Betaxantinas
JR	$919.07 \pm 0.05$	$853.26 \pm 7.31$	$65.81 \pm 0.42$
VR	$388.22 \pm 0.05$	$337.95 \pm 0.97$	$50.73 \pm 0.21$
JA	$807.32 \pm 0.05$	$132.08 \pm 2.22$	$675.24 \pm 3.50$
VA	$377.06 \pm 0.05$	$66.69 \pm 0.71$	$310.37 \pm 0.87$

Fuente: Elaboración propia. **JR**: Jugo de pitaya roja, **VR** vino de pitaya roja, **JA** Jugo de pitaya amarilla, **VA** vino de pitaya amarilla.

Los resultados se expresan como la media de las muestras, específicamente en base a la masa seca de la pitaya utilizada, por triplicado  $\pm$  desviación estándar.

Las pitayas se encuentran clasificadas dentro de la familia de las cactáceas, las cuales se caracterizan por la fuerte presencia de compuestos bioactivos y colorantes entre ellos las betalaínas como señala Ramírez et al., (2018). Los frutos de *Hylocereus sp.* ofrecen un pigmento de tono rojo-morado y tienen concentraciones de betalaínas significativamente altas (entre 28-40 mg de betacianinas/100 g pulpa) por lo que podrían ser muy adecuadas para la producción de colorantes naturales.

Las betacianinas se asocian con coloraciones rojo-violeta mientras que las betaxantinas se asocian con coloraciones amarillas, por lo que la proporción de betacianinas y betaxantinas observada tanto en el jugo fresco y los vinos, de las dos variedades de pitaya analizadas en el presente trabajo están completamente relacionadas con el color del fruto.

Vergara, (2013) encontró en la pulpa de tuna púrpura (*Opuntia ficus-indica*) un contenido de betacianinas de  $25.4 \pm 0.2$  mg/100 mL y de Betaxantinas de  $8.54 \pm 0.1$  mg/100 mL. Esto les permitió concluir que predominaron las betacianinas por sobre las betaxantinas, en los frutos de color rojo-púrpura.

El contenido de betalaínas en la pitaya de mayo (*S. griseus*) es diferente entre las dos variedades de fruto analizados, debido a que las betacianinas son las más abundantes en la pitaya roja y las betaxantinas en la pitaya amarilla.

Al comparar el contenido de betalaínas totales presentes en los jugos frescos y vinos de pitaya se puede apreciar que existe una diferencia significativa en su concentración. Esto se puede atribuir a diversos factores que influyen en la estabilidad de las betalaínas; entre ellos, la temperatura, el pH, la actividad de agua, la luz, la presencia o ausencia de oxígeno y la acción enzimática. Siendo la temperatura el factor más influyente en la degradación de las betalaínas (Sánchez et al., 2015).

Teniendo en cuenta que los resultados mostrados en el presente estudio corresponden solo a la masa seca de la pitaya utilizada, se confirma una retención del 42.24 % y 46.70 % del contenido de fenoles totales para los vinos obtenidos de pitaya de mayo de las dos variedades estudiadas en comparación al jugo natural.

Mediante un comparativo de pares de medias, Tabla 29, por la prueba de t Student para dos muestras suponiendo varianzas iguales, con un nivel de significancia del 0.05%, se observa

que existe diferencia significativa entre los porcentajes de retención. Consecuentemente, se rechaza la hipótesis nula, afirmando que la retención del contenido de betalaínas totales en los dos tratamientos es estadísticamente diferente.

En el caso de los constituyentes de las betalaínas totales, las betacianinas presentaron una retención del 39 % en la fermentación de pitaya roja y 45% de retención de betaxantinas para los vinos de pitaya amarilla.

Tabla 28.

*Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales, en el porcentaje de retención del contenido de betalaínas totales.*

	<b>V. Rojo</b>	<b>V. amarillo</b>
Media	42.24	46.7
Varianza	0.3811	0.3140333
Observaciones	3	3
Varianza agrupada	0.347566667	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	<b>-9.19609376</b>	
P(T<=t) una cola	0.000388351	
Valor crítico de t (una cola)	2.131846786	
P(T<=t) dos colas	0.000776702	
Valor crítico de t (dos colas)	<b>2.776445105</b>	

Fuente: Elaboración propia.

Los datos se expresan como la media de las muestras, del producto de tres repeticiones  $\pm$  desviación estándar de la muestra, se empleó la prueba de t de Student a un  $\alpha= 0.05$ .

## 6.7 Resultados del análisis estadístico

De acuerdo a un análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo, se realizó una comparación de medias de la relación del contenido de fenoles totales, antocianinas betalaínas y capacidad antioxidante entre las muestras de dos tratamientos, tanto para jugos como vinos, Apéndice 8.

Los resultados indican que existe diferencia significativa en las concentraciones mencionadas anteriormente entre cada uno de los tratamientos (variedad roja y amarilla). Por lo cual, estadísticamente hay diferencia significativa en la relación entre los dos tratamientos

realizados, presentando diferencias en la concentración de los compuestos bioactivos. Estos resultados son originados principalmente por la naturaleza propia de los frutos, ya que igualmente un análisis estadístico no muestra diferencia significativa en las condiciones en las que se llevó a cabo la fermentación de las pitayas.

El coeficiente de correlación de Pearson entre la capacidad antioxidante y el contenido de fenoles totales fue alta y positiva ( $r = 0.970$ ), se observó el mismo comportamiento sobre la correlación de las antocianinas totales con el contenido de betacianinas, donde el valor de  $r$  corresponde a 0.894.

Esto concuerda con las correlaciones directas obtenidas entre la concentración de metabolitos secundarios y la capacidad antioxidante determinada por el método FRAP, expresada como el índice de capacidad reductor ICR, atribuyendo el alto índice de capacidad reductora al porcentaje de retención de los fenoles totales y antocianinas que existe en los productos.

Contrariamente a esto, existe una correlación débil e inversa en la relación de Betaxantinas con el contenido de fenoles totales, betacianinas y antocianinas, por consiguiente, su participación como compuestos que confieran capacidad antioxidante es prácticamente nula.

Tabla 29.

*Correlación de Pearson en relación de los compuestos bioactivos.*

	<b>FT</b>	<b>Bc</b>	<b>Bx</b>	<b>AT</b>	<b>PR</b>
FT	1				
Bc	0.789935464	1			
Bx	-0.114243881	-0.691184734	1		
AT	0.88013901	0.89464995	-0.460740897	1	
PR	0.970621	0.626822226	0.105053708	0.800513372	1

Fuente: Elaboración propia. FT: Fenoles totales, Bc: Betacianinas, Bx: Betaxantinas, AT: Antocianinas, PR: poder reductor.

Los datos se expresan como la media de las muestras, del producto de tres repeticiones  $\pm$  desviación estándar de la muestra, se empleó la prueba de t de Student a un  $\alpha = 0.05$ .

## CONCLUSIONES

El tratamiento propuesto en el presente proyecto, determinó que no existen diferencias significativas en las características fisicoquímicas finales de los productos, con base a las condiciones generales establecidas. El proceso de fermentación se mantuvo durante 6 días hasta lograr la estabilización en relación a los grados brix, pH y grado alcohólico de los vinos.

Los porcentajes del grado alcohólico determinados para los vinos de ambos tratamientos se encuentran en un promedio del 12 %, valor que se encuentra en el intervalo establecido por NOM-142- SSA1-1995 para vinos, vinos espumosos y generosos (10-20 % de alcohol).

La capacidad antioxidante expresada como el índice de capacidad reductora ICR, fue determinada por el ensayo FRAP mediante la reducción del hierro férrico  $Fe^{+3}$  hasta la forma  $Fe^{+2}$ . Cabe señalar que no existen reportes previos en la literatura científica, sobre la aplicación de este método para determinar la capacidad antioxidante en frutos *Stenocereus griseus*. Por lo tanto, estos son los primeros resultados. Con base al fundamento anterior, se determinó una conservación de más del 80% de la capacidad antioxidante en los vinos. El ICR más alto se encontró en la pitaya de la variedad roja.

Los vinos de pitaya presentan una degradación de menos del 40 %, en el contenido de fenoles totales en comparación a los frutos naturales. Esto indica, que el proceso de fermentación altera su conservación; sin embargo, el tratamiento aplicado es homogéneo para ambas variedades permitiendo el mismo porcentaje de retención para ambos tratamientos. Por naturaleza propia de los frutos la concentración más alta de fenoles totales se encuentra en variedad de coloración roja manteniendo la misma relación en el vino.

A pesar de que, en años anteriores, se afirmaba la nula relación entre antocianinas y betalaínas, existen reportes recientes, de su identificación en frutos de la familia de las cactáceas, afirmación que se comprueba en la presente investigación, donde se cuantificó presencia de estos compuestos en los frutos de pitaya de mayo, utilizando el método del pH diferencial, la concentración de antocianinas presentes en todas las muestras beneficia la relación con la capacidad antioxidante determinada.

De acuerdo a los resultados de la investigación, se encontró que en el jugo de la pitaya roja se encuentran concentraciones más altas de betalaínas, comparándolas con los jugos de pitaya amarilla. Este mismo comportamiento se observó en los vinos. Sin embargo, el porcentaje de retención de betalaínas disminuyó considerablemente para ambos tratamientos. En ambos vinos, el contenido de betalaínas disminuyó aproximadamente en un 50 % respecto al jugo de pitaya utilizado para su producción. Este efecto se atribuye a la inestabilidad coronel de las betalaínas a diversos factores, tales como temperatura, pH, luz, actividad de agua y actividad enzimática; así como a la presencia de oxígeno y/o metales. A pesar de la disminución del contenido de betalaínas en los vinos, la capacidad antioxidante no se vio afectada. Una retención de más del 80 % de la capacidad reductora de los vinos en relación a los jugos frescos, se debió principalmente a la gran estabilidad de los compuestos fenólicos y antocianinas.

## RECOMENDACIONES

- Implementar un proceso de clarificado para minimizar la presencia de sólidos suspendidos, evitando la pérdida de compuestos bioactivos durante el proceso.
- Realizar una evaluación sensorial, para conocer la aceptación final del producto.
- Evaluar el comportamiento de las propiedades funcionales de los vinos, después de un período de envejecimiento.
- Evaluar la presencia de los compuestos volátiles presentes en la muestra, por cromatografía de gases.
- Separar los compuestos antioxidantes tanto de los jugos como los vinos, utilizando métodos cromatográficos y caracterizarlos por técnicas espectroscópicas y espectrométricas, tales como infrarrojo, Resonancia Magnética Nuclear y espectrometría de masa.
- Identificar los ácidos presentes en los jugos y los vinos.
- Emplear aditivos que mejoren el sabor y aroma de los vinos.

## BIBLIOGRAFIA

- Acosta, L. M. (2000). Fermentación microbiana de la pulpa de pitaya (*Stenocereus queretaroensis*) para la liberación del pigmento hidrosoluble. Tesis. Universidad Autónoma de Chapingo.
- Ayala, K., & Beltrán, M. del C. (2005). Caracterización de Frutos de Pitaya *Stenocereus griseus* H. IX Congreso de Ciencia de Los Alimentos y V Foro de Ciencia y Tecnología de Alimentos, 252–259.
- Ayala, K., Beltrán, M. del C., & Victoria, T. (2008). Determinación de la actividad enzimática de extractos crudos de cuatro variedades de pitaya *Stenocereus griseus* H. XII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería, 53.
- Badui, S. (2006). Química de los alimentos. Química de los alimentos.
- Belda, I., Navascués, E., Alonso, A., Marquina, D., & Santos, A. (2014). Microbiología del proceso de vinificación: selección de levaduras *Saccharomyces cerevisiae* autóctonas con óptimas propiedades enológicas. Reduca (Biología). Serie Microbiología, 7(1), 1–14.
- Bravo, H. H., & Sánchez, M. (2002). Las cactáceas de México. BioDiversitas, 40 (Universidad Autónoma de México), 24.
- Coronel, M. (2008). Los vinos de frutas. Facultad de Ciencias de La Ingeniería, Universidad Tecnológica Equinoccial. Quito-Ecuador, 57–69.
- Coronel, M. (2017). Los vinos de frutas. Principales alimentos naturales, Universidad Tecnológica Equinoccial. Quito-Ecuador, 68-78.
- Cosavalente, K. S., Ruiz, S. G., & Ganoza, M. L. (2016). Antocianinas totales y capacidad antioxidante in vitro de extractos de diferente grado etanólico del fruto de *Vaccinium*

*corymbosum* “Arándano.” *Ucv-Scientia*, 8(1), 44–48. <https://doi.org/10.18050/revucv-scientia.v8n1a5>

DiCYT. (2013). *Investigan antioxidantes naturales presentes en especies de cactáceas*. Agencia Iberoamericana, para la difusión, de la ciencia y la tecnología.

Espinosa, I. (2021). *Capacidad antidiabética in vitro de formulados de pulpa de chilacayota (Curcubita ficifolia Bouché)*. Tesis. Instituto Tecnológico Superior de Acatlán de Osorio 35-66.

Fernández, V., Berradre, M., Sulbarán, B., & Ojeda de Rodríguez, G, Peña, J. (2009). *Caracterización química y contenido mineral en vinos comerciales venezolanos*. *Revista de La Facultad de Agronomía*, 26(3), 382-397.

Figuroa, R., Tamayo, J., González, S., & Moreno, G. (2011). *Actividad antioxidante de antocianinas presentes en cáscara de pitahaya (Hylocereus undatus)*. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 12(1), 44–50.

Flores, C., Meráz, Ma. del R., Gómez, M. Á., Corrales, J., & Rodríguez, A. (2003). *Pitayas y pitahayas producción, poscosecha, industrialización y comercialización*. Universidad Autónoma Chapingo.

García, L., Dueñas, M., Santos, C., Valle, S., & Salinas, Y. (2017). *Betalains and phenolic compounds profiling and antioxidant capacity of pitaya (Stenocereus spp.) fruit from two species (S. Pruinus & S. stellatus)*. *Food Chemistry*, 234, 111–118.

García, L., Salinas, Y., & Valle, S. (2012). *Betalaínas, compuestos fenólicos y actividad antioxidante en pitaya de mayo (Stenocereus griseus H.)*. *Betalains, phenolic compounds and antioxidant activity in pitaya de mayo (Stenocereus griseus H.)*. *Nota Científica Rev. Fitotec. Mex*, 35(5), 1–5.

- García, L., Valle, S., Salinas, Y., & Joaquín, E. (2013). Physical, Chemical, and Antioxidant Activity Characterization of Pitaya (*Stenocereus pruinosus*) Fruits. *Plant Foods for Human Nutrition*, 68 (4), 403–410. <https://doi.org/10.1007/s11130-013-0391-8>
- García Martínez, E., Fernández Segovia, I., & Fuentes López, A. (2015). Determinación de polifenoles totales por el método de Folin- Ciocalteu. *Etsiamn*, 9.
- García, P. (2016). *Compuestos bioactivos en alimentos de origen vegetal*. Facultad de Farmacia Universidad Complutense de Madrid, 4–8.
- Gómez, M. S. (2009). *Deshidratado de tomate saladette en un secador de charolas giratorias*. Tesis. Universidad Tecnológica de la Mixteca.
- González, I. (2006). *Desarrollo y aplicación de procesos tecnológicos para la elaboración de conservas a base de pitaya (*Stenocereus spp.*) de la región mixteca*. Universidad Tecnológica de la Mixteca.
- Gutiérrez, M. (2020). *Vino de mora (*Rubus ulmifolius*) y flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) con propiedades antioxidantes y nutricionales como un producto innovador*. *Revista Caribeña de Ciencias Sociales*, 2020–06, 2–8.
- Leyva, D. (2009). *Determinación de antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante en licores y frutos de mora*. Universidad Tecnológica de la Mixteca.
- Londoño, J. (2010). *Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad*. Facultad de Ingenierías, Corporación Universitaria Lasallista., 9, 129–162.
- López, J. A., & Martínez, J. R. et al. (2013). *Alcohol y atención primaria de la salud Alcohol y atención primaria de la salud*. Organización Panamericana de La Salud, 274(1), 3–148.

- López, S. (2014). Extracción y actividad antioxidante del colorante natural de la pulpa del fruto de *Opuntia ficus-indica* “tuna morada” y su aplicación en crema chantilly. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, 64.
- Lucero, P. (2015). Efecto del uso de levaduras y concentración de °Brix en las características fisicoquímicas y sensoriales de vino de fresa con miel. Escuela Agrícola Panamericana.
- M.A., N. (2013). Pigmentos extraídos de tunas como colorantes alimentarios con propiedades funcionales. Congreso; III Reunión sobre el aprovechamiento integral de la tuna y otras cactáceas., 8–12.
- Mex, R. M. J., & Bolívar, N. J. et al. (2013). Actividad antioxidante de cinco variedades de maíz cultivadas en Campeche, México. Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, 12(6), 558–571.
- Muñoz, O. (2003). Antocianos y betalaínas, colorantes naturales de aplicación industrial. Salesianos S.A. (Primera Ed).
- Nemeth, A. H., González, C. P., & Pérez, B. R. (2010). Evaluación química del vino de semeruco (*Malpighia spp.*) producido en el estado Falcón, Venezuela. Multiciencias, 10(3), 234–240.
- Ochoa, C., & García I, V. (2012). Características antioxidantes, fisicoquímicas y microbiológicas de jugo fermentado y sin fermentar de tres variedades de pitahaya (*Hylocereus spp.*). Scientia Agropecuaria, 3(4), 1–12.
- Oré, F., De la Cruz, R., Montalvo, J., & Muñoz, K. (2019). Evaluation of the acceptability and alcohol content of goose wine (*Oxalis tuberosa*) of five varieties. Journal of Agro-Industry Sciences, 1(2), 39–43. <https://doi.org/10.17268/jais.2019.005>

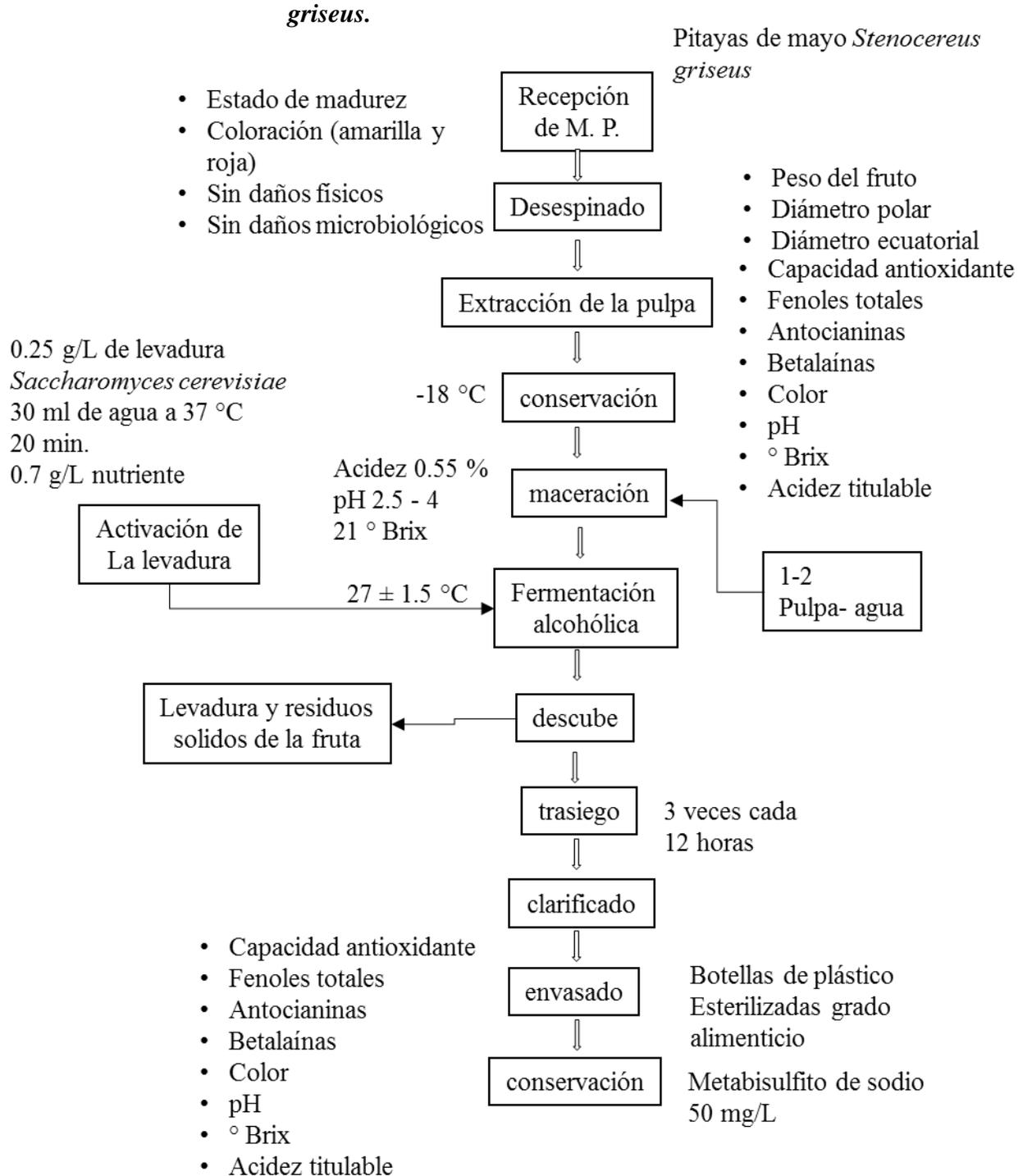
- Oropeza-Guerrero, M. P., Santos-Sánchez, N. F., Salas-Coronado, R., Valadez-Blanco, R., Hernández-Carlos, B., & Guadarrama-Mendoza, P. C. (2018). Productivity and antioxidant activity of wild, reconstituted, and hybrid strains of the pink oyster mushroom, pleurotus djamor (*Agaricomycetes*), from Mexico. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 20(7), 607–621. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.2018026382>
- Pájaro, H. A., Benedetti, J., & García, L. A. (2018). Caracterización Fisicoquímica y Microbiológica de un Vino de Frutas a base de Tamarindo (*Tamarindus indica L.*) y Carambola (*Averrhoa carambola L.*). *Información Tecnológica*, 29(5), 123–130. <https://doi.org/10.4067/s0718-07642018000500123>
- Paladino, S., Nazralla, J. J. B., Vila, H., Genovart, J., Sánchez, M. L., & Maza, M. A. (2008). Oxidación de los vinos tintos - Effect of pH on red wine oxidation. *Revista de La Facultad de Ciencias Agrarias*, Vol. 40, 2, 105–112.
- Pérez, M. G., Hernández, L., & Barragán, B. E. (2017). Extracción de compuestos bioactivos de pitaya roja (*Stenocereus stellatus*) aplicando pretratamientos con microondas, ultrasonido y enzimáticos. *Agrociencia*, 51(2), 135–151.
- Pimienta, E. (1999). El pitayo en Jalisco y especies afines en México. (Universidad). Fundación Produce Jalisco, A.C.
- Ramírez, A. (2005). Elaboración de vinos a partir de frutas tropicales. *Corporación Universitaria Del Meta*, 2–4.
- Ramírez, C., Esquivel, P., Araya, Y., Jiménez, V., & Carle, R. (2018). Estabilidad de las betalaínas en una pulpa pasteurizada de pitaya (*Hylocereus sp.*). *CIGRAS*, 1–2.
- Ramírez, G. M., & Pedroza, J. F. (2001). Fermentación alcohólica a pH regulado y temperatura de 25 ° c en el biorreactor. *Universidad de la Sabana*.

- Rioja, A., Vizaluque, A., & Aliaga, E. (2018). Determinación de la capacidad antioxidante total, fenoles totales, y la actividad enzimática en una bebida no láctea en base a granos de *Chenopodium Quinoa*. *Revista Boliviana de Química*, 35(5), 168–176.
- Romero, Carolina Acosta, U. N. de C. (2012). Evaluación de la Fermentación Alcohólica para la Producción de Hidromiel. Universidad Nacional de Colombia.
- Salazar, B. (2006). Elaboración de vino de tuna. Tesis. Instituto Politécnico Nacional.
- Salinas, E. P. (2017). Efecto del pH sobre la capacidad antioxidante en vino modelo: interacción entre hierro y compuestos fenólicos.
- Sánchez, W., Cortez, J., Solano, M., & Vidaurre, J. (2015). Kinetics of thermal degradation of betacyanins, betaxantins and vitamin C in a juice-based drink beet (*Beta vulgaris l.*) and honey. *Scientia Agropecuaria*, 6(2), 111–118.
- Secretaria de Economía, 1. (2015). Norma Oficial Mexicana NOM-199-SCFI-2017, Bebidas alcohólicas-Denominación, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba. *Statewide Agricultural Land Use Baseline 2015*, 1, 1.
- SIAP. (2017). Pitaya y Pitahaya: ¿no son lo mismo, pero son igual? <https://www.gob.mx/siap/articulos/pitaya-y-pitahaya-no-son-lo-mismo-pero-son-igual>
- Soto, J., Charry, S., & Amorocho, C. (2021). Evaluación del comportamiento del color del vino artesanal de curuba “Son del Alba.” *Ingeniería y Región*, 26, 4–19.
- Suárez, C., Garrido, N. A., & Guevara, C. A. (2016). Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. *Revista de Investigación*, 50(1), 20–28.
- Tasayco, C. (2019). Elaboración de vino de ciruela (*Spondias purpurea L.*). *Ciencia & Desarrollo*, 2, 61–66. <https://doi.org/10.33326/26176033.1995.2.47>

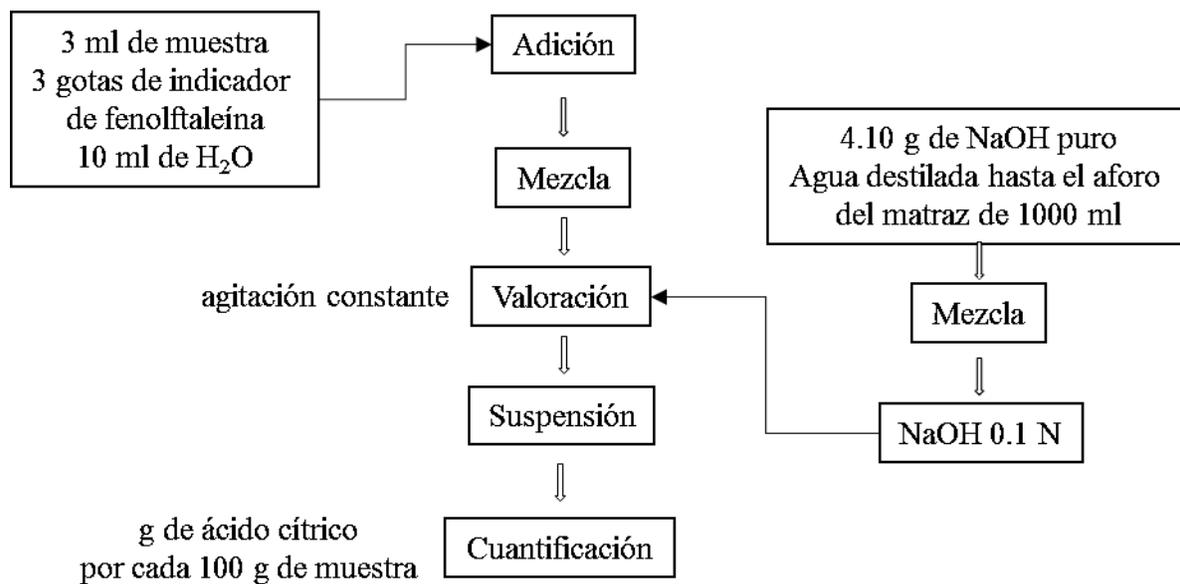
- Vergara, C. (2013). Extracción y estabilización de betalaínas de tuna púrpura (*Opuntia ficus-indica*) mediante tecnología de membranas y microencapsulación, como colorante alimentario. Universidad de Chile.
- Viuda, M., Navajas, Y., Sánchez, E., Juana, F., & Pérez, J. (2009). Antioxidant activity of essential oils of five spice plants widely used in a Mediterranean diet. *Flavour and Fragrance Journal*, 2009(April), 311–316. <https://doi.org/10.1002/ffj>
- Werner, M., & Rauhut, D. (2009). Buenas prácticas vitivinícolas ecológicas. *Viticultura y Enología*, N° 12/2, 1–3.

## APÉNDICES

### Apéndice 1.- Diagrama de bloques para la elaboración de vino de pitaya *Stenocereus*

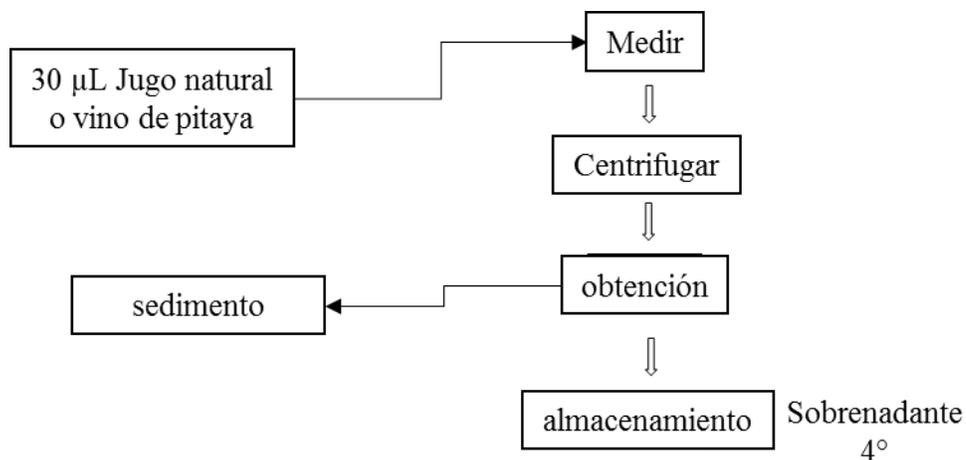


**Apéndice 2.-Diagrama de bloques para la determinación de acidez titulable.**



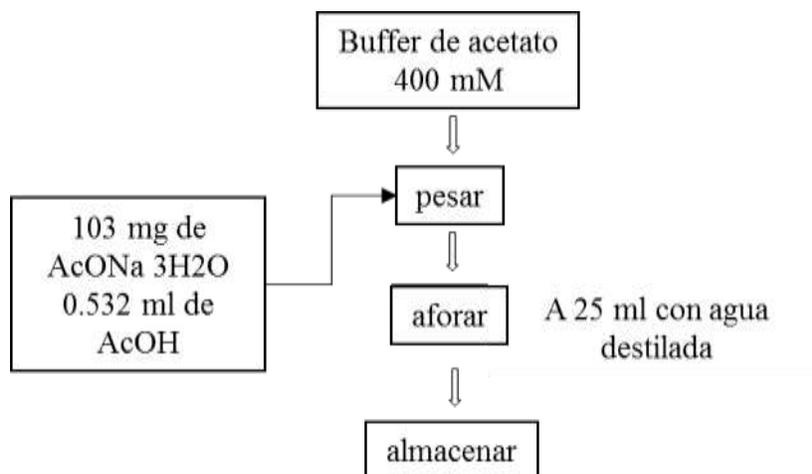
### Apéndice 3.- Determinación de la capacidad antioxidante por el método FRAP.

#### 1.- Extracción de la muestra

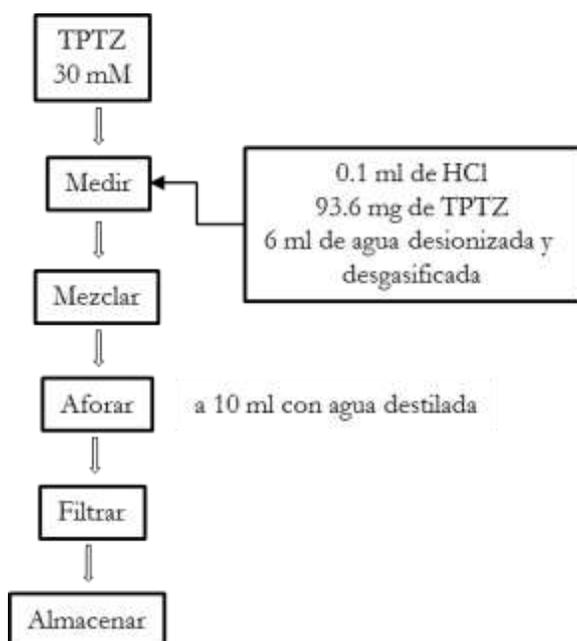


#### 2.- Preparación de reactivo FRAP

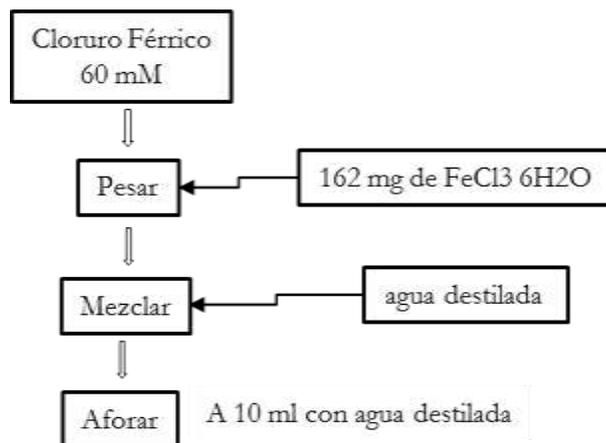
##### 2.1 Preparación de la solución amortiguadora de acetato de sodio.



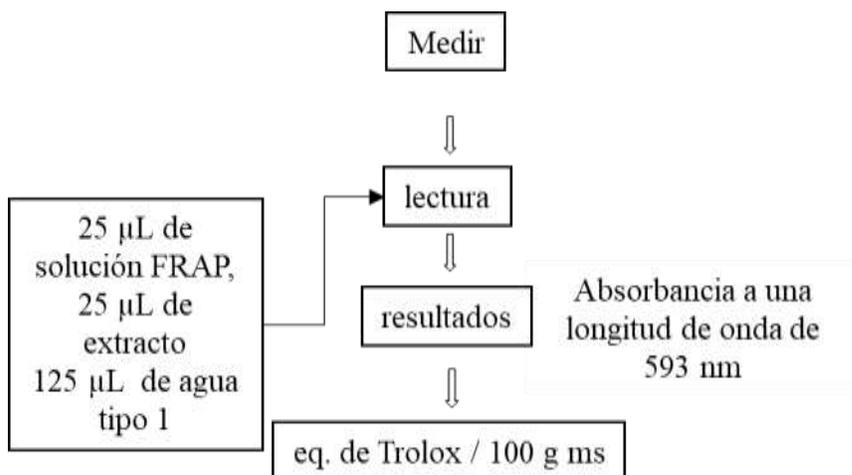
## 2.2 Preparación del reactivo TPTZ



## 2.3 Preparación de Cloruro Férrico

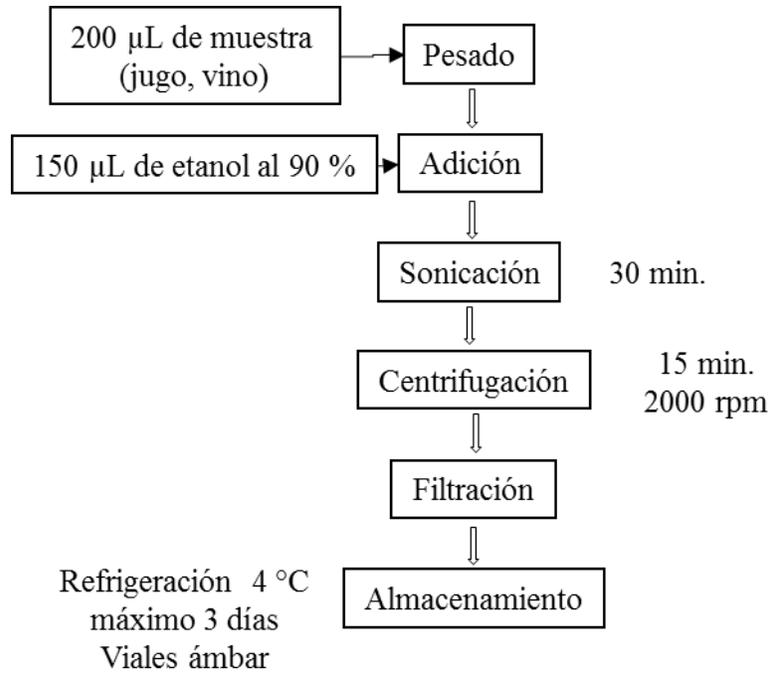


## 3.- Diagrama de bloques para la determinación de la capacidad antioxidante

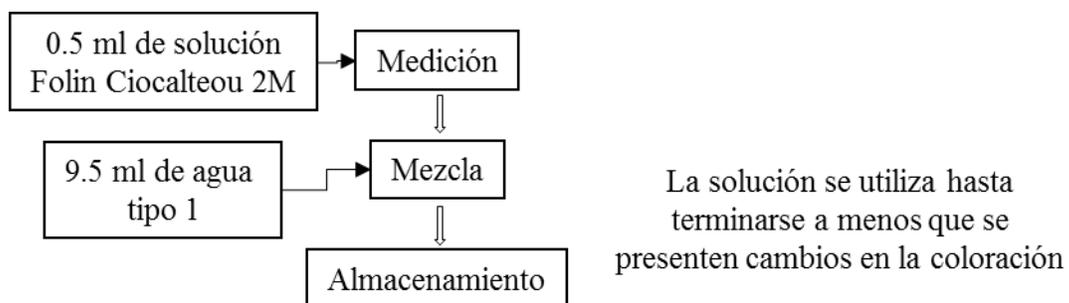


#### Apéndice 4.- Determinación de fenoles totales.

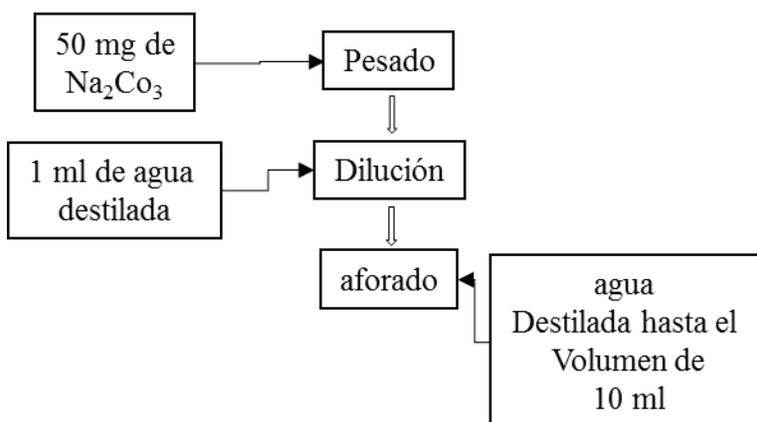
1.- Diagrama de bloques para la preparación de extractos de muestras de jugo y vino de pitaya *Stenocereus griseus*, para determinar fenoles totales.



2.- Diagrama de bloques para la preparación del reactivo Folin Ciocalteou 0.1 M a partir de una solución 2 M.



3.- Diagrama de bloques para la preparación de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 0.05%



4.- Diagrama de bloques para la preparación de estándares de ácido gálico (5, 10, 15, 20 y 25 ppm)

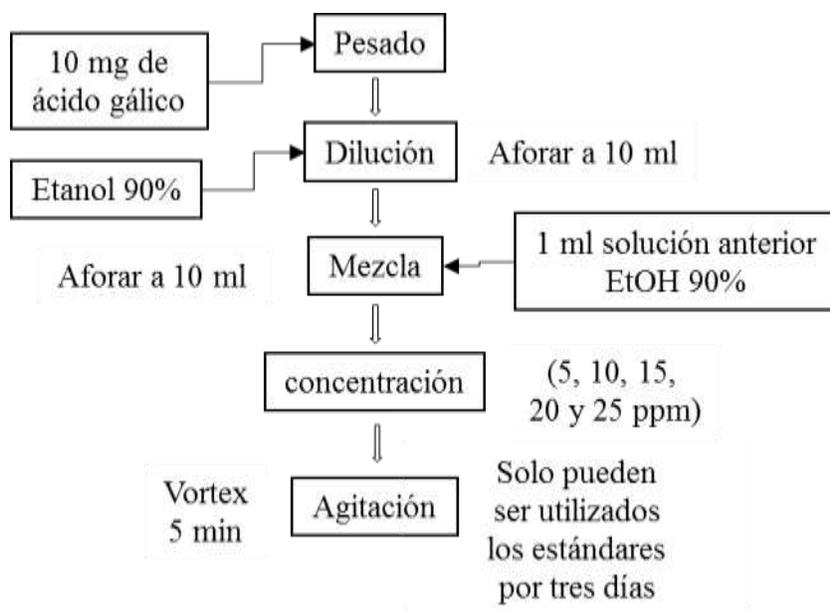
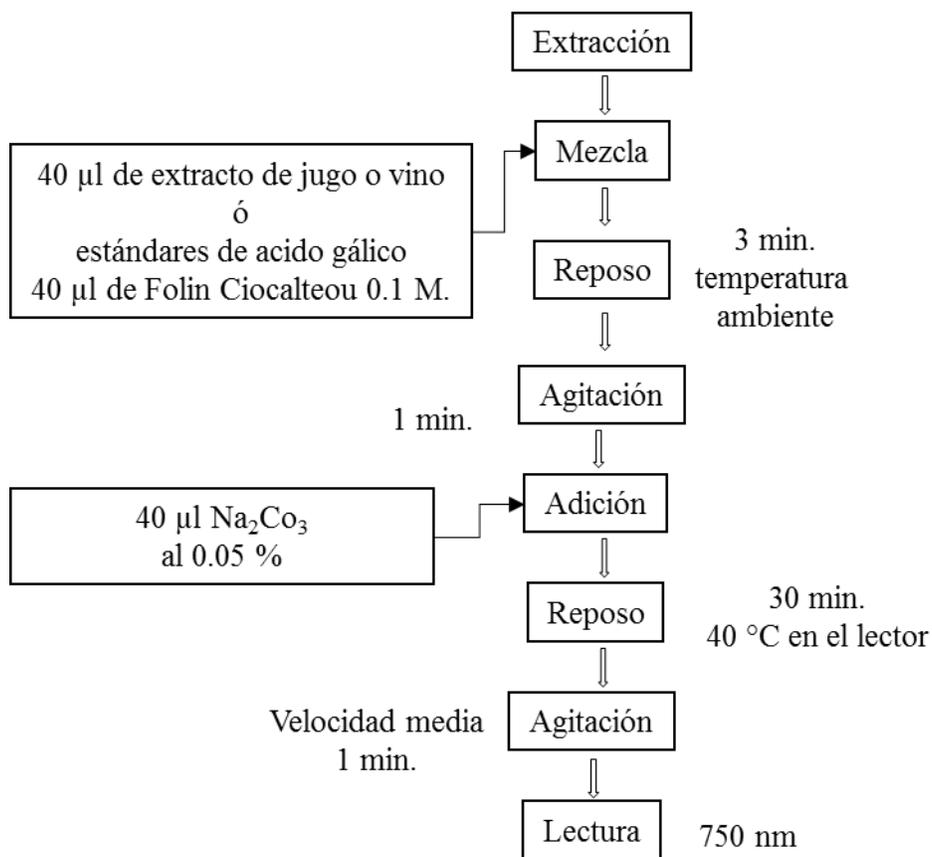


Tabla 30.

*Diluciones de ácido gálico.*

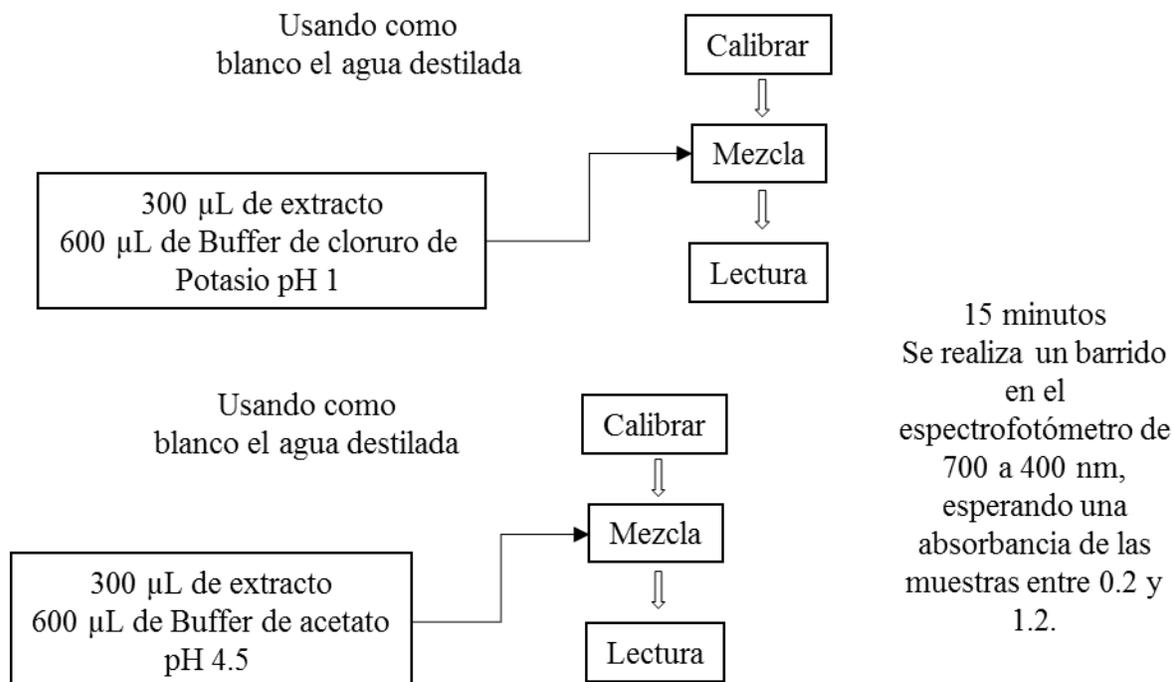
Concentración $\mu\text{L/mL}$	Etanol 90%	mL 100 $\mu\text{g/mL}$ ácido gálico	Volumen total
25	7.5	2.5	10 mL
20	8	2	10 mL
15	8.5	1.5	10 mL
10	9	1	10 mL
5	9.5	0.5	10 mL

5.- Diagramas de bloques para la determinación de fenoles totales en muestras de jugo y vino de pitaya *Stenocereus griseus*.



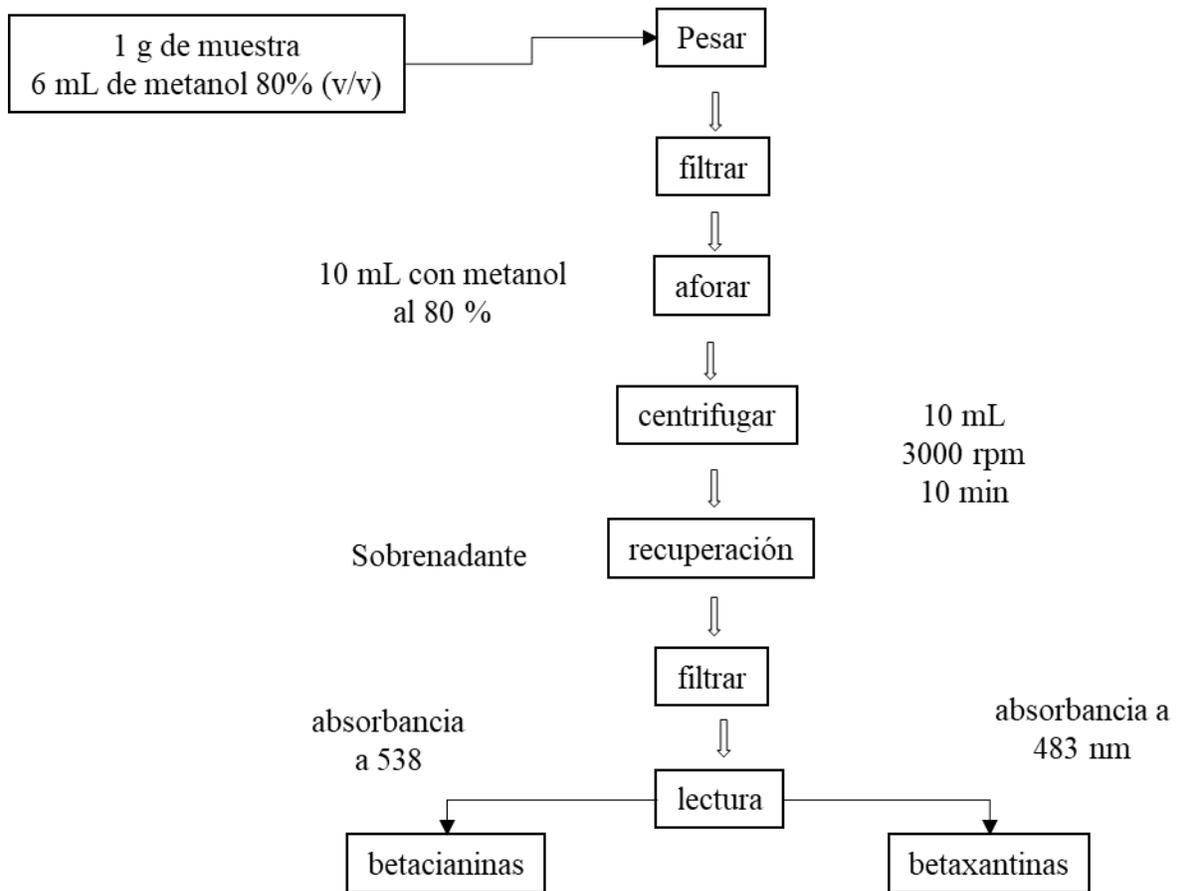
## Apéndice 5.- Determinación antocianinas totales.

1.- Diagrama de bloques para la determinación antocianinas totales a pH distintos.

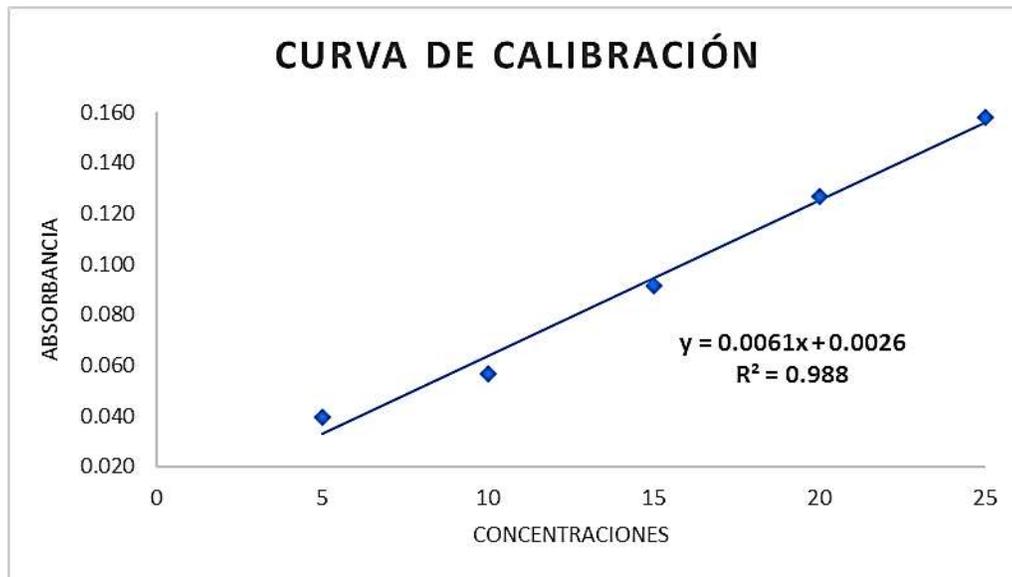


## Apéndice 6.- Determinación de betalaínas.

### 1.- Diagrama de bloques para la determinación betalaínas totales



**Apéndice 7.- Curva de calibración en base al ácido gálico.**



## Apéndice 8.- Análisis estadísticos.

Tabla 31.

*Comparación de medias en la capacidad antioxidante de los jugos frescos.*

<b>Origen de las variaciones</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Promedio de los cuadrados</b>	<b>F</b>	<b>Valor p</b>	<b>Valor crítico para F</b>
Repeticiones	0.10	2	0.054	0.053	0.9492	19
Tratamientos	117947.45	1	117947.45	116351.50	8.59E-06	18.51
Error	2.02	2	1.01			
Total	117949.59	5				

Tabla 32.

*Comparación de medias en la capacidad antioxidante de los vinos.*

<b>Origen de las variaciones</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Promedio de los cuadrados</b>	<b>F</b>	<b>Valor p</b>	<b>Valor crítico para F</b>
Repeticiones	80.54	2	40.27	1.11	0.471	19
Tratamientos	95950.26	1	95950.26	2667.80	0.00037	18.512
Error	71.93	2	35.96			
Total	96102.73	5				

Tabla 33.

*Comparación de medias en el contenido de betalaínas de los jugos.*

<b>Origen de las variaciones</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Promedio de los cuadrados</b>	<b>F</b>	<b>Valor p</b>	<b>Valor crítico para F</b>
Repeticiones	134.15	2	67.07	5.27	0.16	19.00
Tratamientos	18736.56	1	18736.56	1471.80	0.00	18.51
Error	25.46	2	12.73			
Total	18896.17	5				

Tabla 34.

*Comparación de medias en el contenido de betalaínas de los vinos.*

<b>Origen de las variaciones</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Promedio de los cuadrados</b>	<b>F</b>	<b>Valor p</b>	<b>Valor crítico para F</b>
Repeticiones	4.94	2	2.47	1.81	0.36	19.00
Tratamientos	1804.75	1	1804.75	1322.05	0.00	18.51
Error	2.73	2	1.37			
Total	1812.42	5				

Tabla 35.

*Comparación de medias en el contenido de antocianinas de los jugos.*

<b>Origen de las variaciones</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Promedio de los cuadrados</b>	<b>F</b>	<b>Valor p</b>	<b>Valor crítico para F</b>
Repeticiones	11.00	2	5.50	0.50	0.67	19.00
Tratamientos	475.79	1	475.79	43.50	0.02	18.51
Error	21.88	2	10.94			
Total	508.67	5				

Tabla 36.

*Comparación de medias en el contenido de antocianinas de los vinos.*

<b>Origen de las variaciones</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Promedio de los cuadrados</b>	<b>F</b>	<b>Valor p</b>	<b>Valor crítico para F</b>
Repeticiones	198.66	2	99.33	1.13	0.46	19
Tratamientos	742.81	1	742.81	8.49	0.10	18.51
Error	174.95	2	87.47			
Total	1116.44	5				

Tabla 37.

*Comparación de medias en el contenido de fenoles totales de los jugos.*

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Valor <i>p</i>	Valor crítico para F
Repeticiones	111.19	2	55.59	1.70	0.37	19
Tratamientos	164063.57	1	164063.57	5016.70	0.0001	18.51
Error	65.40	2	32.70			
Total	164240.18	5				

Tabla 38.

*Comparación de medias en el contenido de fenoles totales de los vinos.*

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Valor <i>p</i>	Valor crítico para F
Repeticiones	40.87	2	20.43	0.35	0.73	19
Tratamientos	96639.42	1	96639.42	1684.19	0.00059	18.51
Error	114.76	2	57.38			
Total	96795.06	5				

### Apéndice 9.- Diseño de biorreactor.

