



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

**“CARACTERIZACIÓN DE FRUTOS DE PITAYA DE MAYO (*Stenocereus
pruinusus (Otto) Buxb.*) Y DE AGOSTO (*Stenocereus stellatus (Pfeiff.)*) EN
COMPORTAMIENTO POSTCOSECHA”**

T E S I S

QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS EN

CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA



DIRECCIÓN GENERAL ACADÉMICA
DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXÁMENES PROFESIONALES

PRESENTA:

LETICIA GARCÍA CRUZ



Octubre de 2014

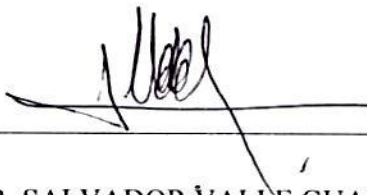
Chapingo, Texcoco, Edo. de México.

CARACTERIZACIÓN DE FRUTOS DE PITAYA DE MAYO (*Stenocereus pruinosus* (Otto) Buxb.) Y DE AGOSTO (*Stenocereus stellatus* (Pfeiff.) EN COMPORTAMIENTO POSTCOSECHA

Tesis realizada por **Leticia García Cruz** bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

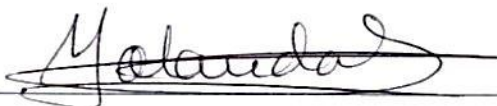
**MAESTRO EN CIENCIAS EN CIENCIA Y
TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA**

DIRECTOR: _____



DR. SALVADOR VALLE GUADARRAMA

CODIRECTORA: _____



DRA. YOLANDA SALINAS MORENO

ASESORA: _____



DRA. MA. CARMEN YBARRA MONCADA

ASESOR: _____



DR. CÉSAR DEL CARMEN LUNA MORALES

*A mis padres Genaro García y
Magdalena Cruz gracias por todas
sus enseñanzas y por creer en mí*

*A mis queridos hermanos gracias
por estar siempre que los necesito*

con amor Lety

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por financiar mis estudios de maestría.

A la Universidad Autónoma Chapingo, por darme la oportunidad de continuar con mi formación profesional.

Al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (COMECyT), por el apoyo económico otorgado para la culminación de este trabajo de investigación.

Al Dr. Salvador Valle Guadarrama por su dirección, disposición y apoyo en todo momento, por confiar en mí y por su valiosa amistad.

A la Dra. Yolanda Salinas Moreno por su dirección, orientación, apoyo, confianza y amistad otorgada.

A la Dra. Ma. Carmen Ybarra Moncada por sus asesorías e interminable paciencia, además de sus acertadas observaciones durante la realización y revisión del trabajo.

Al Dr. Cesar Del Carmen Luna Morales por su orientación y sus acertadas observaciones para fortalecer esta investigación.

Al Dr. Celestino Santos Buelga de la Universidad de Salamanca, España, por darme la oportunidad de trabajar con él, por todas las facilidades brindadas, por su amistad y su invaluable apoyo para culminar este proyecto de investigación.

A la Dra. Montserrat Dueñas de la Universidad de Salamanca, España por su inagotable paciencia durante el trabajo en el laboratorio, por su asesoría y disposición para trabajar en esta investigación.

Al M. C. Jorge Valdéz del Colegio de Posgraduados por todo el apoyo brindado durante la fase experimental en su laboratorio.

A la M. C. Greta Haruno del Colegio de Posgraduados por su paciencia y disponibilidad al realizar las fotografías en el microscopio electrónico de barrido y sobre todo, por la gran amistad brindada.

A la señora Esperanza por facilitarme todos los trámites en mi paso por la Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, pero sobre todo por brindarme su valiosa amistad.

DATOS BIOGRÁFICOS

Leticia García Cruz realizó sus estudios de Licenciatura en la Universidad Autónoma Chapingo en el Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Su desarrollo profesional ha sido en investigación en pitaya, principalmente. Presentó en modalidad de poster el trabajo titulado “Identificación de betalaínas en pitaya de mayo (*Stenocereus griseus* (Haworth) Buxbaum) por cromatografía en capa fina (TLC) y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)” y en modalidad de ponencia el trabajo titulado “Actividad antioxidante de la pitaya de mayo (*Stenocereus griseus* (Haworth) Buxbaum) en el XIV Congreso Nacional de Ciencias Agronómicas, celebrado en la Universidad Autónoma Chapingo del 25 al 27 de abril de 2012. Ha publicado dos artículos, el primero en la Revista Fitotecnia Mexicana, denominado “Betalaínas, compuestos fenólicos y actividad antioxidante de la pitaya de mayo (*Stenocereus griseus* (Haworth) Buxbaum),” el segundo titulado “Physical, chemical, and antioxidant activity characterization of pitaya (*Stenocereus pruinosus*) fruits” en el Journal Plant Food for Human Nutrition. En el XVI Congreso Nacional de Ciencias Agronómicas participó con la ponencia titulada “Caracterización físicoquímica de frutos de pitaya de agosto (*Stenocereus stellatus* (Pfeiffer) Riccobono)”, celebrado en la Universidad Autónoma Chapingo del 23 al 25 de abril de 2014. También tiene formación profesional en investigación en maíz azul en el Instituto de Nacional de Investigación, Agrícola y Pecuaria (INIFAP) y ha asesorado una tesis de licenciatura que lleva por nombre “Frigoconservación de frutos de pitaya (*Stenocereus pruinosus* (Otto) Buxb.) en postcosecha”.

CARACTERIZACIÓN DE FRUTOS DE PITAYA DE MAYO (*Stenocereus pruinosus* (Otto) Buxb.) Y DE AGOSTO (*Stenocereus stellatus* (Pfeiff.)) EN COMPORTAMIENTO POSTCOSECHA

CHARACTERIZATION OF FRUIT PITAYA OF MAY (*Stenocereus pruinosus* (Otto) Buxb.)) AND OF AGUOST (*Stenocereus stellatus* (Pfeiff.)) IN BEHAVIOR POSTHARVEST

García-Cruz, L., Valle-Guadarrama, S., Salinas-Moreno, Y., Ybarra-Moncada, Ma. C.,
Luna-Morales, C. C.

RESUMEN

Stenocereus pruinosus y *Stenocereus stellatus* son cactáceas columnares endémicas de México, que producen frutos llamados pitayas, los cuales tienen un alto potencial económico, sin embargo, son altamente perecederas. Se conoce poco sobre el comportamiento postcosecha y de los fitoquímicos presentes en la pulpa de los frutos, por lo cual, el objetivo del presente trabajo fue realizar una caracterización morfológica, fisiológica y fisicoquímica de dos especies de pitaya: *S. pruinosus* en sus variantes roja (SpR) y naranja (SpN) y *S. stellatus* en sus variantes roja (SsR) y blanca (SsB), almacenadas durante 10 días a 24 °C y 90 % de humedad relativa, e identificar por HPLC-DAD-MS el tipo de betalainas y compuestos fenólicos presentes en la pulpa. La pérdida de peso al final del periodo de almacenamiento osciló de 24 a 29 %, la firmeza y el grosor de cáscara disminuyeron; sin embargo, el color, la acidez titulable, los sólidos solubles totales, y el pH se mantuvieron constantes durante toda la evaluación. El contenido de betalainas y fenoles solubles totales osciló de 50 a 62 y de 31.5 a 92 mg/100 g de muestra fresca, respectivamente, y el mayor contenido de estos compuestos lo tuvo la variante SsR, la actividad antioxidante varió de 6.7 a 2.9 µmoles ET/g de muestra fresca. Las betalainas identificadas por HPLC-DAD-MS fueron la indicaxantina, vulgaxantina IV, gomfrenina, filocactina, 6'-O-malonil-2-descarboxi-betanina y sus respectivos isómeros, además de la 2-descarboxi-betanina. Los grupos de compuestos fenólicos identificados correspondieron a ácidos fenólicos, flavonoles y flavanonas. Los frutos conservaron sus características de calidad hasta el quinto día de almacenamiento, no obstante, sus características fisicoquímicas se mantuvieron constantes durante todo el tiempo de evaluación.

Palabras clave: vida de anaquel, tasa respiratoria, betalainas, fenoles solubles totales, *S. pruinosus* y *S. stellatus*

ABSTRACT

Stenocereus pruinosus and *Stenocereus stellatus* are endemic columnar cacti of Mexico. They produce fruits called pitayas, which have high economic potential; however, they are highly perishable. Little is known about the postharvest behavior and phytochemicals present in the pulp of the fruit. For this reason, the objective of this study was to characterize morphologically, physiologically and physicochemically two species of pitaya: *S. pruinosus* in their red variant (SpR) and orange variant (SpO) and *S. stellatus* in their red variant (SsR) and white variant (SsW). Samples were stored for 10 days at 24 °C and 90 % relative humidity, and betalains and phenolic compounds present in the pulp were identified by HPLC-DAD-MS. Weight loss at the end of the storage period ranged from 24 to 29 %, shell strength and thickness decreased; however, color, acidity, total soluble solids, and pH remained constant throughout the evaluation. Betalains and total soluble phenols ranged from 50 to 62 and from 31.5 to 92 mg/100 g fresh sample, respectively. The highest content of these compounds was found in the SsR variant. Antioxidant activity ranged from 6.7 to 2.9 µmol TE/g of fresh sample. Betalains identified by HPLC-DAD-MS were indicaxanthin, vulgaxanthin IV, gomphrenin, phylocactin, 6'-O-malonyl-2-decarboxy-betanin and their respective isomers, as well as 2-decarboxy-betanin. The groups of phenolic compounds identified were phenolic acids, flavones and flavonols. Although the fruits retained quality characteristics until the fifth day of storage, their physicochemical characteristics held constant throughout the evaluation period.

Keywords: shelf life, respiratory rate, betalains, total soluble phenols, *S. pruinosus* and *S. stellatus*

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	iv
DATOS BIOGRÁFICOS.....	vi
LISTA DE CUADROS	xii
LISTA DE FIGURAS	xiii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	2
2.1 Origen y distribución de <i>Stenocereus</i> spp. en México.....	2
2.2 Morfología del cactus.....	3
2.3 Clasificación taxonómica	4
2.4 Principales especies de <i>Stenocereus</i> de importancia económica en México	4
2.5 Sistemas de cultivo.....	6
2.6 Cultivares de <i>S. pruinosus</i> y <i>S. stellatus</i>	8
2.5 Situación actual de la pitaya en México.....	10
2.6 Calidad de los frutos.....	10
2.7 Índices de cosecha.....	11
2.8 Cosecha	11
2.9 Comercialización.....	11
2.10 Usos.....	12
2.11 Composición química de los frutos de <i>S. pruinosus</i> y <i>S. stellatus</i>	12
2.12 Betalaínas	13
2.12.1 Betacianinas	15

2.12.2 Betaxantinas	16
2.12.3 Ruta biosintética de las betalaínas.....	17
2.12.4 Actividad biológica	19
III.- LITERATURA CITADA	21
IV. CAPITULO 1. COMPORTAMIENTO POSTCOSECHA EN FRUTOS DE PITAYA (<i>Stenocereus pruinosus</i> y <i>S. stellatus</i>) ALMACENADOS A TEMPERATURA AMBIENTE	26
RESUMEN.....	26
ABSTRACT	26
4.1 INTRODUCCIÓN.....	27
4.2 MATERIALES Y MÉTODOS	28
4.2.1 Material vegetal.....	28
4.2.2 Características fisiológicas.....	29
4.2.2.1 Pérdida de peso	29
4.2.2.2 Velocidad de respiración.....	29
4.2.2.3 Etanol/acetaldehído	30
4.2.3 Características físicas	30
4.2.3.1 Color.....	30
4.2.3.2 Firmeza.....	31
4.2.3.3 Grosor de cáscara	31
4.2.4 Características químicas.....	31
4.2.4.1 Sólidos solubles totales	31
4.2.4.2 pH.....	31
4.2.4.3 Acidez titulable	32
4.2.4.4 Extracción de betalaínas.....	32

4.2.4.5 Determinación de fenoles solubles totales	33
4.2.4.6 Actividad antioxidante	33
4.2.4.7 Análisis de resultados.....	34
4.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
4.3.1 Caracterización inicial.....	35
4.3.2 Características fisiológicas.....	40
4.3.2.1 Pérdida de peso	40
4.3.3 Características físicas.....	45
4.3.3.1 Grosor de cáscara	45
4.3.3.2 Firmeza.....	47
4.3.3.3 Color.....	49
4.3.4 Características químicas.....	51
4.3.4.1 Sólidos solubles totales (SST), pH y acidez titulable	51
4.3.4.2 Azúcares totales	54
4.3.4.3 Fenoles solubles totales (FST), betalainas totales y actividad antioxidante	56
4.4. CONCLUSIONES	60
4.5. LITERATURA CITADA	61
V. CAPITULO II. CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL FRUTO DE DOS ESPECIES DE PITAYA (<i>Stenocereus pruinosus</i> Y <i>Stenocereus stellatus</i>) ENDÉMICAS DE MÉXICO.....	67
RESUMEN.....	67
ABSTRACT	67
5.1 INTRODUCCIÓN	68
5.1 MATERIALES Y MÉTODOS	70
5.2.1 Material vegetal.....	70

5.2.2 Color de pulpa	70
5.2.3 Betalaínas	70
5.2.3.1 Extracción	70
5.2.3.2 Análisis por HPLC-DAD-MS	71
5.2.4 Compuestos fenólicos	73
5.2.4.1 Extracción	73
5.2.4.2 Análisis por HPLC-DAD-MS	74
5.2.5 Análisis estadístico.....	75
5.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	75
5.3.1 Características de color en la pulpa de las variantes de pitaya estudiadas.....	75
5.3.2 Separación e identificación de betalaínas por HPLC-DAD-MS.....	77
5.3.4 Cuantificación de betalaínas por HPLC-DAD.....	81
5.3.5 Separación, identificación y cuantificación de compuestos fenólicos por HPLC-DAD-MS	83
5.3.6 Cuantificación de compuestos fenólicos por HPLC-DAD	84
5.3.6 Actividad antioxidante	87
VI. CONCLUSIONES GENERALES.....	90
VII. LITERATURA CITADA.....	91

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de la pitaya (<i>Stenocereus</i> spp).....	4
Cuadro 2. Principales diferencias entre los frutos de <i>S. queretaroensis</i> , <i>S. pruinosus</i> y <i>S. stellatus</i> (Pimienta-Barrios et al., 2004; Luna-Morales, 2006; García-Cruz et al, 2013; Campos-Rojas et al., 2011; Casas et al., 1997).	6
Cuadro 3. Nombre de algunos cultivares de <i>S. pruinosus</i> y <i>S. stellatus</i> y sus características. 9	
Cuadro 4. Composición bromatológica, mineral y química de dos especies de pitaya (García-Cruz et al., 2013; Beltrán-Orozco et al., 2009; Granado-Sánchez et al., 1999; Luna-Morales, 2006)......	13
Cuadro 5. Grupos de betacianinas identificados en diferentes plantas del orden Cariofilales (Strack et al., 2003).....	16
Cuadro 6. Grupos de betaxantinas identificados en diferentes plantas del orden Cariofilales (Strack et al., 2003).....	17
Cuadro 7. Análisis canónico de las variables de caracterización física de <i>S. pruinosus</i> y <i>S. stellatus</i>	35
Cuadro 8. Caracterización física de <i>Stenocereus pruinosus</i> en sus variantes roja (<i>SpR</i>), naranja (<i>SpN</i>) y <i>Stenocereus stellatus</i> en sus variantes roja (<i>SsR</i>) y blanca (<i>SsB</i>).....	37
Cuadro 9. Caracterización física de <i>Stenocereus pruinosus</i> en sus variantes roja (<i>SpR</i>), naranja (<i>SpN</i>) y <i>Stenocereus stellatus</i> en sus variantes roja (<i>SsR</i>) y blanca (<i>SsB</i>) (Continuación).	38
Cuadro 10. Parámetros de color en variantes naranja (<i>SpN</i>) y roja (<i>SpR</i>) de <i>S. pruinosus</i> y roja (<i>SsR</i>) y blanca (<i>SsB</i>) de <i>S. stellatus</i>	76
Cuadro 11. Identificación y cuantificación de betalaínas or HPLC-DAD-MS en la pulpa de los frutos de la variante roja de <i>Stenocereus stellatus</i> (<i>SsR</i>) y de dos variantes, roja y naranja, de <i>Stenocereus pruinosus</i> (<i>SpR</i> y <i>SpN</i>). Concentraciones expresadas en µg/g muestra seca.....	80
Cuadro 12. Tiempo de retención (<i>Tr</i>), longitud de onda de máxima absorción ($\lambda_{\max}$), ion molecular protonado $[M-H]^+$, patrón de fragmentación en el espectrómetro de masas, identificación tentativa y contenido de los compuestos fenólicos presentes en dos muestras de <i>S. pruinosus</i> (<i>SpR</i> : variante roja, <i>SpN</i> : variante naranja) y <i>S. stellatus</i> (<i>SsR</i> : variante roja y <i>SsB</i> : variante blanca). Concentraciones expresadas en µg/ g de muestra seca.....	85
Cuadro 13. Matriz de correlación de betalaínas totales, fenoles y actividad antioxidante. ...	89

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribución del género <i>Stenocereus</i> en México. Fuente: Pimienta-Barrios y Nobel, 1994.	3
Figura 2. Cactus, flor y fruto de <i>Stenocereus</i> spp.	4
Figura 3. Distribución de las principales especies de <i>Stenocereus</i> . Fuente: Nobel (2002).....	5
Figura 4. Producción nacional en toneladas para el año 2011. Fuente: Elaboración propia con datos de SAGARPA, 2012	10
Figura 5. a) Ácido betalámico, b) betanidina y c) indicaxantina.	15
Figura 6. Ruta metabólica de las betalaínas. Fuente: García-Carmona <i>et al.</i> (2011).....	19
Figura 7. Frutos de pitaya de mayo (<i>Stenocereus pruinosus</i>) en sus variantes roja (a) y naranja (b), y de pitaya de agosto (<i>Stenocereus stellatus</i>) en sus variantes roja (c) y blanca (d).....	40
Figura 8. Pérdida de peso acumulado en frutos de pitaya <i>Stenocereus pruinosus</i> en sus variantes roja (<i>SpR</i>), naranja (<i>SpN</i>) y <i>Stenocereus stellatus</i> en sus variantes roja (<i>SsR</i>) y blanca (<i>SsB</i>) durante 10 días de almacenamiento a 24 °C y 90 % HR. Letras iguales indican diferencia no significativa (Tukey, 0.05).	41
Figura 9. Velocidad de respiración de frutos de pitaya <i>Stenocereus pruinosus</i> en sus variantes roja (<i>SpR</i>), naranja (<i>SpN</i>) y <i>Stenocereus stellatus</i> en sus variantes roja (<i>SsR</i>) y blanca (<i>SsB</i>) durante 10 días de almacenamiento a 24 °C y 90 % HR. Letras iguales indican diferencia no significativa (Tukey, 0.05).	42
Figura 10. Producción de metabolitos anaerobios: Etanol/acetaldehído en frutos de pitaya <i>Stenocereus pruinosus</i> en sus variantes roja (<i>SpR</i>), naranja (<i>SpN</i>) y <i>Stenocereus stellatus</i> en sus variantes roja (<i>SsR</i>) y blanca (<i>SsB</i>) durante 10 días de almacenamiento a 24 °C y 90 % HR. Letras iguales indican diferencia estadística no significativa (Tukey, 0.05).	44
Figura 11. Disminución en el grosor de la epidermis de <i>Stenocereus pruinosus</i> en sus variantes roja (<i>SpR</i>), naranja (<i>SpN</i>) y <i>Stenocereus stellatus</i> en sus variantes roja (<i>SsR</i>) y blanca (<i>SsB</i>) durante 10 días de almacenamiento a 24 °C y 90 % HR. Letras iguales indican diferencia estadística no significativa (Tukey, 0.05).....	46

Figura 12. Microfotografías al microscopio electrónico de barrido mostrando la superficie con cera de la cáscara (a), un corte transversal en donde se observan las capas de cutina y el tejido epidérmico(b), y corte histológico de la cáscara de pitaya de agosto que muestra los tejidos principales (<i>Stenocereus stellatus</i>) (c).....	47
Figura 13. Pérdida de firmeza en cáscara y pulpa de <i>Stenocereus pruinosus</i> en sus variantes roja (<i>SpR</i>), naranja (<i>SpN</i>) y <i>Stenocereus stellatus</i> en sus variantes roja (<i>SsR</i>) y blanca (<i>SsB</i>) durante 10 días de almacenamiento a 24 °C y 90 % HR. Letras iguales indican diferencia estadística no significativa (Tukey, 0.05).....	49
Figura 14. Comportamiento de los parámetros de color: Luminosidad, Hue y Croma en cáscara y pulpa de <i>Stenocereus pruinosus</i> en sus variantes roja (<i>SpR</i>), naranja (<i>SpN</i>) y <i>Stenocereus stellatus</i> en sus variantes roja (<i>SsR</i>) y blanca (<i>SsB</i>) durante 10 días de almacenamiento a 24 °C y 90 % HR. Letras iguales indican diferencia estadística no significativa (Tukey, 0.05).	50
Figura 15. Comportamiento de SST, pH y acidez titulable de <i>Stenocereus pruinosus</i> en sus variantes roja (<i>SpR</i>), naranja (<i>SpN</i>) y <i>Stenocereus stellatus</i> en sus variantes roja (<i>SsR</i>) y blanca (<i>SsB</i>) durante 10 días de almacenamiento a 24 °C y 90 % HR. Letras iguales indican no diferencia significativa (Tukey, 0.05).	54
Figura 16. Comportamiento del contenido de azúcares totales de <i>Stenocereus pruinosus</i> en sus variantes roja (<i>SpR</i>), naranja (<i>SpN</i>) y <i>Stenocereus stellatus</i> en sus variantes roja (<i>SsR</i>) y blanca (<i>SsB</i>) durante 10 días de almacenamiento a 24 °C y 90 % HR. Letras iguales indican no diferencia estadística significativa (Tukey, 0.05).	55
Figura 17. Contenido de betalaínas, fenoles solubles totales (FST) y actividad antioxidante de <i>Stenocereus pruinosus</i> en sus variantes roja (<i>SpR</i>), naranja (<i>SpN</i>) y <i>Stenocereus stellatus</i> en sus variantes roja (<i>SsR</i>) y blanca (<i>SsB</i>) durante 10 días de almacenamiento a 24 °C y 90 % HR. Letras iguales indican diferencia estadística no significativa (Tukey, 0.05).	58
Figura 18. Cromatogramas de las betalaínas purificadas por cromatografía en columna y que fueron utilizadas como estándares para la cuantificación. Gomfrenina provino de betabel (<i>Beta vulgaris</i>), en tanto que la indicaxantina se obtuvo de la variante roja de <i>Stenocereus stellatus</i>	73
Figura 19. Frutos de pitaya de mayo (<i>Stenocereus pruinosus</i>) en sus variantes roja (a) y naranja (b), y de pitaya de agosto (<i>Stenocereus stellatus</i>) en sus variantes roja (c) y blanca (d).....	76
Figura 20. Perfil cromatográfico de las betalaínas presentes en dos variantes de <i>Stenocereus pruinosus</i> (<i>SpR</i> : variante roja y <i>SpN</i> : variante naranja) y una de <i>Stenocereus stellatus</i> (<i>SsR</i> : variante roja). Los cromatogramas identificados con la letra a corresponden a una longitud de onda de 530 nm y los de la letra b a 480 nm.....	79

Figura 21. Fracciones obtenidas de *Stenocereus stellatus* variante roja (SsR) durante la purificación en cromatografía en columna. Las betalaínas predominantes en cada fracción fueron 1: indicaxantina, 2: isoindicaxantina, 3: gomfrenina I, 4: filocactina, 5: isofilocactina, 6: no identificado y 7: 6'-O-malonil-2-descarboxi-betanina.82

Figura 22. Perfil cromatográfico de los compuestos fenólicos presentes en dos variantes de *Stenocereus pruinosus* (SpR: variante roja y SpN: variante naranja) y de *Stenocereus stellatus* (SsR: variante roja, SsB: variante blanca), analizadas por HPLC-DAD-MS. ...86

Figura 23. Actividad antioxidante de dos variantes de *Stenocereus pruinosus* (SpR: variante roja y SpN: variante naranja) y de *Stenocereus stellatus* (SsR: variante roja y SsB: variante blanca). Medias con letras iguales indican que no hay diferencia estadística significativa, de acuerdo con la comparación de medias de Tukey ($\alpha=0.05$).88

I. INTRODUCCIÓN

La pitaya de mayo (*Stenocereus pruinosus* (Otto) Buxb.)) y la pitaya de agosto o xoconochtli (*Stenocereus stellatus* (Pfeiff.)) son cactáceas columnares endémicas de México (Luna-Morales, 2004; Casas *et al.*, 2006). Sus frutos son bayas poliespermáticas de forma globosa u ovoide con espinas caducas; la pulpa es de distintos colores: desde el blanco hasta el púrpura (Nerd *et al.*, 1997). De acuerdo con Flores (2003), en México existen principalmente cuatro regiones productoras de pitaya: las Mixtecas de Puebla y Oaxaca, las regiones de Michoacán, las regiones de Jalisco-Zacatecas y de Sinaloa-Sonora; sin embargo, las especies antes mencionadas tienen mayor presencia en los Estados de Oaxaca y Puebla. El consumo de los frutos es principalmente en fresco y su comercialización representa una importante fuente económica para los productores de regiones áridas, semiáridas y subhúmedas, pero la principal limitante para mercados fuera de las regiones productoras, es su corta vida postcosecha, dado su carácter no climatérico y a sus características de presencia de espinas, cáscara suave y pulpa jugosa, lo que dificulta su transporte y manejo en almacenamiento. En adición, se tiene poco conocimiento sobre la composición y los caracteres morfológicos que se encuentran relacionados con una mayor vida de anaquel de los frutos. En este contexto, el objetivo del presente trabajo fue realizar una caracterización fisiológica y fisicoquímica de dos variantes de *S. pruinosus* y *S. stellatus* almacenadas durante 10 días a temperatura ambiente.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Origen y distribución de *Stenocereus* spp. en México

Las cactáceas son originarias del Continente Americano y se encuentran distribuidas a todo lo largo y ancho del mismo. México ha sido un importante centro de establecimiento y diferenciación para esta familia de plantas, encontrándose de 550 a 900 especies, de las cuales se tiene un 79% de endemismos (Bravo-Holis, 1978). El género *Stenocereus* comprende 24 especies (Gibson y Horak, 1978), de éstas 19 se encuentran en México (Bravo-Holis, 1978). Sus orígenes se remontan al Caribe y Norte de Sudamérica, de donde emigraron hacia México y dadas las condiciones climatológicas evolucionaron en diversas formas (Bravo-Holis, 1978).

En México el género *Stenocereus* se puede encontrar a lo largo de la costa del pacífico desde Sonora hasta Oaxaca, la costa de Tamaulipas, las Mixtecas Poblana y Oaxaqueña, Jalisco y San Luis Potosí (Figura 1).

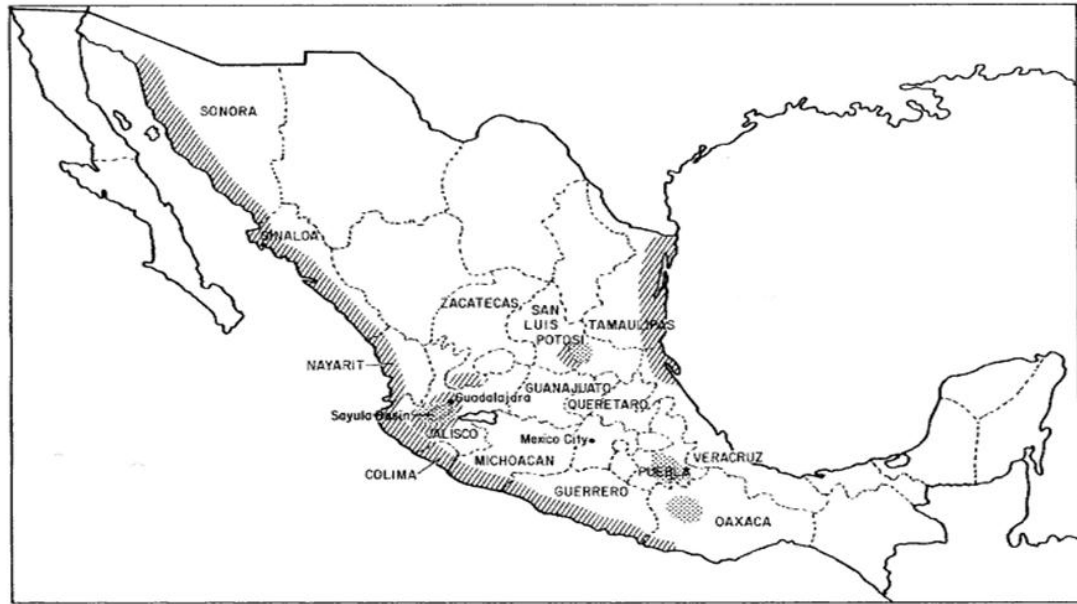


Figura 1. Distribución del género *Stenocereus* en México. Fuente: Pimienta-Barrios y Nobel, 1994.

2.2 Morfología del cactus

De acuerdo con Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada (1991) el género *Stenocereus* tiene características de cactus arborescente, con una altura de 2 a 9 m, ramoso desde la base. Los ejemplares bien desarrollados suelen tener tronco definido. Las ramas son erectas, presentan de 8 a 12 costillas obtusas de 2 cm de alto. Las flores son hermafroditas, se presentan en el ápice de las ramas, en las laterales o en corona. Pueden ser diurnas, vespertinas o nocturnas, de color rosa pálido o blanco y de forma tubular-campanulada. Los frutos son bayas poliespermáticas, globosos o ligeramente ovoides, provistos de areolas espinosas y caducas. El color varía desde el verde amarillento hasta rojo o moreno purpúreo, en tanto que la pulpa puede presentar coloraciones desde blanco,

amarillo, rosa, anaranjado, rojo o púrpura. Las semillas son pequeñas, de testa lisa o verrucosa, hilo hundido, embrión curvo, cotiledones grandes y triangulares.



Figura 2. Cactus, flor y fruto de *Stenocereus* spp.

2.3 Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica de la pitaya, de acuerdo con lo informado por Bravo y Sánchez (1991), se muestra en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de la pitaya (*Stenocereus* spp.).

Reino	Plantae
Subreino	Embriophyta
División	Angiospermae
Clase	Dicotyledoneae
Orden	Cariofilales
Familia	Cactaceae
Subfamilia	Cactoideae
Tribu	Pachycereeae
Género	<i>Stenocereus</i>

FUENTE: Bravo y Sánchez, 1991

2.4 Principales especies de *Stenocereus* de importancia económica en México

Tres son las especies de mayor valor comercial en México, *S. queretaroensis*, la cual es cultivada en la región denominada Subcuenca de Sayula, misma que comprende los

estados de Jalisco, Querétaro, Zacatecas, Guanajuato y Michoacán (Pimienta-Barrrios y Novel, 1994), seguida de *S. pruinosus* y *S. stellatus*, las cuales se encuentran en los estados de Oaxaca y Puebla, en la región denominada Mixteca Baja (Casas *et al.*, 2006; Luna-Morales, 2007) (Figura 3).

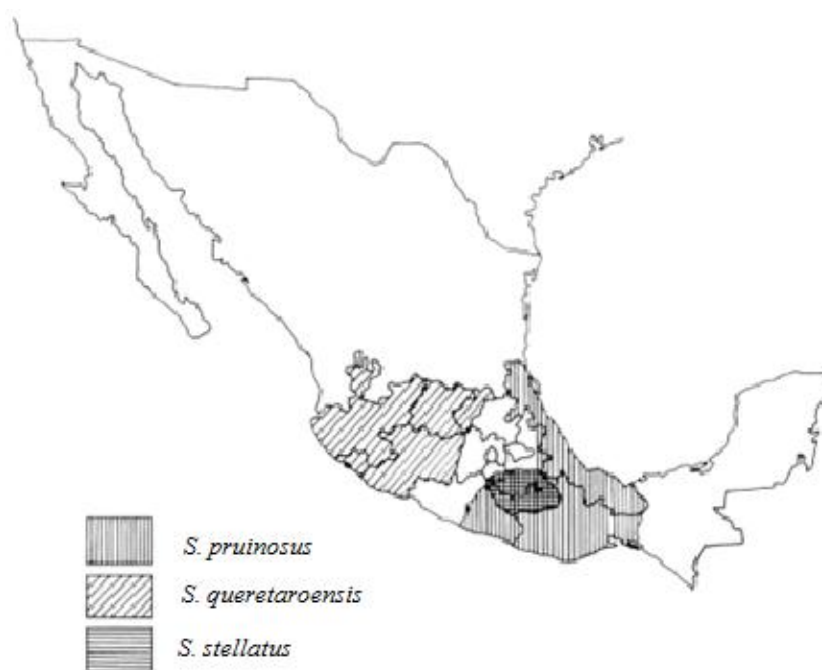


Figura 3. Distribución de las principales especies de *Stenocereus*. Fuente: Nobel (2002)

Los frutos de las tres especies son muy similares; la principal diferencia entre ellos radica en que *S. queretaroensis* presenta dehiscencia, el sabor de *S. stellatus* es agri dulce y la forma es ligeramente más esférica que el resto, además de las épocas de fructificación (Cuadro 2).

Cuadro 2. Principales diferencias entre los frutos de *S. queretaroensis*, *S. pruinosis* y *S. stellatus* (Pimienta-Barrios et al., 2004; Luna-Morales, 2006; García-Cruz et al, 2013; Campos-Rojas et al., 2011; Casas et al., 1997).

Característica	<i>S. queretaroensis</i>	<i>S. pruinosis</i>	<i>S. stellatus</i>
Nombre común	Pitaya de Querétaro	Cuaupetla nochtli, Pitaya de mayo	Xoconochtli, pitaya de agosto, pitaya agria
Época de cosecha	abril-junio	abril-mayo	agosto-septiembre
Longitud	6-8 cm	7.9-12.01 cm	5-8 cm
Peso	60-160 g	177-398.5 g	92-170 g
Forma	globosa-ovoide	globosa-ovoide	Globosa
Sabor	Dulce	Dulce	Agridulce
Color	blanco, rosa, amarillo, naranja, rojo y púrpura; en distintas tonalidades.		
Dehiscencia	Sí	No	No

2.5 Sistemas de cultivo

La pitaya ha pasado por un largo y lento proceso de domesticación, el cual aún persiste hasta la fecha (Luna-Morales, 2004). Anteriormente se distinguían tres formas de producción de pitaya (Casas *et al.*, 1997; Flores-Valdéz, 2003):

- a) Recolección de frutos útiles en poblaciones silvestres: se da principalmente en terrenos de agostadero donde pastorea el ganado
- b) Manejo de poblaciones silvestres *in situ*: el cual se lleva a cabo durante el aclareo de terrenos para la agricultura, en el cual se dejan en pie y se promueven los individuos con las características más deseables, mientras que el resto se elimina.

- c) Cultivo en huertos de traspatio (manejo *ex situ*): a través de la propagación de partes vegetativas de individuos adultos con características deseables. En este sistema se cuenta con una amplia riqueza varietal de pitayas.

En los últimos 10 años el sistema de producción con mayor dinamismo ha sido el de establecer plantaciones comerciales, promovido en gran medida por los gobiernos estatales de los estados de Jalisco, Puebla y Oaxaca, dado a que los requerimientos de agua y fertilizantes para este cultivo son mínimos y representa una fuente de ingresos para los productores de zonas áridas, semiáridas y subhúmedas.

Para el establecimiento de huertos de traspatio, los productores del Valle de Tehuacán seleccionan aquellos cultivares que tienen sabor, color y tamaño atractivos al consumidor, además de que se tiene preferencia hacia frutos con cáscara delgada y pocas espinas (Parra *et al.*, 2012). No obstante, en La Mixteca Baja, toman en cuenta el color y características asociadas al manejo postcosecha, como cáscara gruesa y presencia abundante de espinas, dado que éstas mejoran la aireación entre frutos, evitan roces y amortiguan golpes (Luna-Morales, 2007). Actualmente las características a tomar en cuenta para el establecimiento de plantaciones comerciales son mayor tamaño de fruto y menor longitud de espina, esto con la finalidad de facilitar la comercialización, rendimiento; sin embargo, otros móviles de selección que los productores toman en cuenta son el rendimiento por planta, época de maduración, porcentaje de humedad del fruto, color de fruto y cáscara, grado de ramificación del cactus y firmeza de la cáscara (Rosales-Bustamante *et al.*, 2009).

2.6 Cultivares de *S. pruinosus* y *S. stellatus*

En los Estados de Oaxaca y Puebla los productores mixtecos, han obtenido cultivares de pitaya mediante el manejo y selección a partir de poblaciones silvestres (Luna-Morales *et al.*, 2001; Casas *et al.*, 1999). En dicha selección se han considerado en cuenta diferentes características, como son el color de la pulpa, tamaño y forma de los frutos, sabor, número y longitud de las espinas en la epidermis y grosor de cáscara (Parra *et al.*, 2012).

En el Valle de Tehuacán la especie de *S. pruinosus* se ha clasificado de manera tradicional en seis variantes, de acuerdo con su color, el cual puede ser rojo, amarillo, naranja, morado y blanco; sin embargo, dentro de esta clasificación se tienen dos o más sub-variantes, mismas que son clasificadas tomando en cuenta los parámetros antes mencionados, lo cual origina que en dicha zona se tengan clasificadas un total de 15 variantes (Parra *et al.*, 2012). En la Mixteca Baja, región contigua al Valle de Tehuacán, se ha encontrado mayor diversidad en la especie *S. pruinosus* que en la especie *S. stellatus*, pues de la primera se han identificado 31 variantes, mientras que de la segunda sólo nueve (Luna-Morales *et al.*, 2001).

El nombre que reciben las variantes de *S. pruinosus* o *S. stellatus* depende del grupo étnico que habite en la región, los cuales pueden ser mixtecos, nahuas o zapotecos. Ellos suelen llamarlas en sus dialectos, sin embargo, también las nombran en español (Luna-Morales, 2007; Casas *et al.*, 1999). Para dar el nombre a las variantes primero toman en cuenta el color, después la forma del fruto, su tamaño, su sabor y la abundancia de espinas. En algunas variantes se utiliza el nombre de animales, el cual se asocia al

tamaño de los frutos, por ejemplo, en la variante llamada “roja shicanela”, la palabra shicanela se refiere al nombre de una especie de hormigas. Otros ejemplos son las variantes “amarilla hormiga” y la “amarilla gorrioncito”, en donde estos nombres hacen s de pitaya que producen frutos pequeños (Parra *et al.*, 2012).

Cuadro 3. Nombre de algunos cultivares de *S. pruinosa* y *S. stellata* y sus características.

Especie	Nombre del cultivar	Características del fruto	Fuente
<i>S. pruinosa</i>	Amarilla	pulpa color amarillo	Rosales-Bustamante <i>et al.</i> 2009
	Amarilla canario	pequeños y pulpa color amarilla	Rosales-Bustamante <i>et al.</i> 2009
	Cántaro	alagados con pulpa color guinda	Rosales-Bustamante <i>et al.</i> 2009
	Solferina	grandes con pulpa color solferino	Rosales-Bustamante <i>et al.</i> 2009
	Masuda	cáscara gruesa resistente a la fricción	Rosales-Bustamante <i>et al.</i> 2009
<i>S. stellata</i>	nahuas/mixteco		
	Chichi-xoco-nochtli/ Ndichi cáaya cuaá	pulpa de color rojo o rosa	Casas <i>et al.</i> , 1999
	Iztac-xoco-nochtli/Ndichi cáaya cúshi	pulpa de color blanco	Casas <i>et al.</i> , 1999
	Coz-xoco-noxtli/ cáaya cuan	Ndichi pulpa de color amarilla o naranja	Casas <i>et al.</i> , 1999
	Tlanec-xoco-nochtli/ Ndichi cáaya ton	pulpa de color morado	Casas <i>et al.</i> , 1999

En poblaciones silvestres el color más común en ambas especies es el rojo (95 %), sin embargo, en huertos familiares se pueden tener de cuatro a seis variantes en color (Casas *et al.*, 2006; Parra *et al.*, 2012).

2.5 Situación actual de la pitaya en México

En el 2011 la producción nacional de pitaya llegó a ser de 3,193 toneladas, alcanzando un valor de \$ 39.8 millones de pesos, concentrándose principalmente en los Estados de Oaxaca, Jalisco, Puebla, Nayarit y Morelos (SAGARPA, 2012). De las dos regiones productoras de pitaya, la de mayor producción es la de La Mixteca Baja (Oaxaca y Puebla), donde se tiene el 58 % de la producción total.

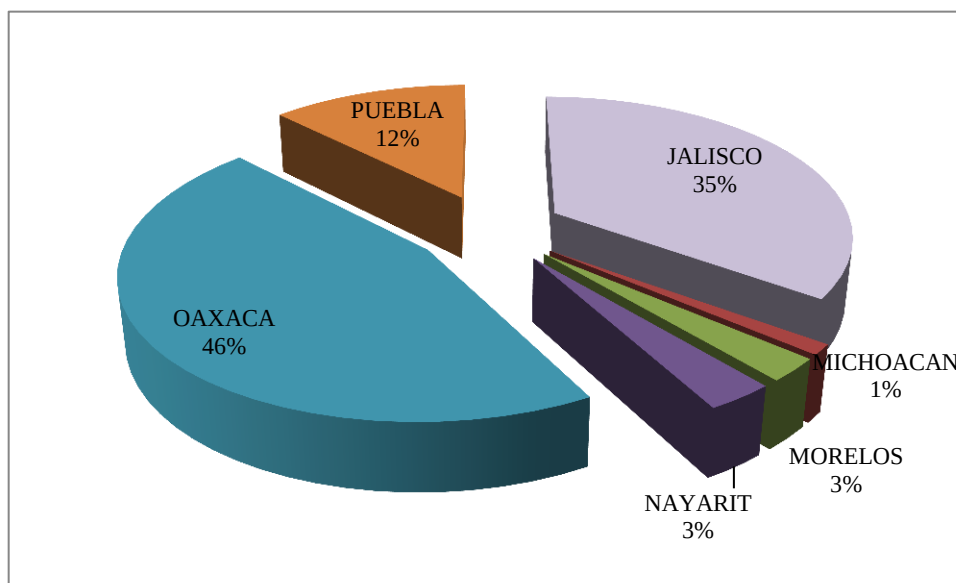


Figura 4. Producción nacional en toneladas para el año 2011. Fuente: Elaboración propia con datos de SAGARPA, 2012

2.6 Calidad de los frutos

La calidad de consumo de un producto es una combinación de diversas características y atributos, dentro de los cuales destacan el tamaño, color, forma y firmeza adecuadas.

En los frutos de pitaya las características consideradas para clasificarlos como de buena calidad son el sabor, dulzura y que tengan poca cantidad de semillas (Luna-Morales,

2001). Por el peso se clasifican en frutos chicos (60 a 110 g), frutos medianos (110 a 160 g) y frutos grandes de 160 a 250 g (Martínez-González y Bonilla-Bada, 2005).

2.7 Índices de cosecha

Debido al comportamiento del patrón de respiración los frutos de pitaya han sido clasificados como frutos no climatéricos (Armella *et al.*, 2003), es decir, no presentan un aumento en la respiración durante la maduración hasta alcanzar pico climatérico que se caracteriza por el incremento en la tasa de respiración.

Los índices de cosecha aún no se encuentran bien definidos; se basan principalmente en el conocimiento empírico de los productores. Se identifican tres, el más importante es cuando las espinas comienzan a desprenderse; el segundo cuando la cáscara empieza a adquirir un brillo característico, y el tercero se basa en el cambio de coloración de la cáscara, el cual varía dependiendo del tipo de cultivar (Bravo-Hollis, 1978).

2.8 Cosecha

Se realiza por la mañana o en la tarde, y se utiliza un instrumento de corte llamado “chicol”, el cual consiste en una vara de carrizo de 2 a 4 m de longitud, en cuya parte terminal se coloca una canastilla con una abertura (similar a una jaula) por donde entra el fruto, que con un suave jalón se desprende del tallo. Una vez que se corta el fruto, se deposita en una cesta de carrizo, o bien en una caja de plástico (Bonilla *et al.*, 2001).

2.9 Comercialización

De acuerdo con Martínez (2004a) (citado por Martínez-González y Bonilla-Bada, 2005), el 95 % de la producción de pitaya en La Mixteca Baja se comercializa en fresco y el 5

% se destina para autoconsumo. Del total que se comercializa, se estima que el 40 % se hace en la central de abastos de la Ciudad de México, el resto en los mercados regionales, como son Huajuapán de León, Huixcolotla, Tehuacán, Acatlán de Osorio, Tepeaca, Izúcar de Matamoros y Puebla (Martínez-González y Bonilla-Bada, 2005).

2.10 Usos

Los usos de las especies *S. pruinosus* y *S. stellatus* son muy variados debido a que se pueden aprovechar diversas partes de las plantas para distintos fines. Los tallos pueden ser utilizados como forraje, cercas vivas para el control de la erosión e incluso cuando éstas se secan se pueden utilizarse como leña. Asimismo, las flores (botón floral) son comestibles; sin embargo, la parte más importante es el fruto, el cual se consume fresco, deshidratado, en mermeladas, paletas, bebidas alcohólicas (llamadas “colonche”); la cáscara (epidermis) de los frutos también suele usarse para alimentar a los cerdos, pollos y guajolotes (Luna-Morales y Aguirre; 2001; Casas *et al.*, 1999).

2.11 Composición química de los frutos de *S. pruinosus* y *S. stellatus*.

En los frutos de estas especies, al igual que en la mayoría de los frutos, el componente mayoritario es el agua, seguido del contenido de carbohidratos. En muchos estudios se ha abordado más la especie *S. pruinosus*, tal es así que se tiene reportado incluso el contenido de minerales, dentro de los cuales el más importante es el hierro (García-Cruz *et al.*, 2013). De acuerdo al pH, los frutos de *S. stellatus* son más ácidos que los de *S. pruinosus*, sin embargo, el contenido de sólidos solubles totales es muy similar (Cuadro 4). En estas especies también se ha reportado la presencia de betalaínas y compuestos fenólicos, en la especie *S. pruinosus* el contenido de betalaínas oscila de 215 a 347 mg/

100 g de muestra seca y de 52 a 167 mg EAG/100 g de pulpa seca para el caso de fenoles (García-Cruz *et al.*, 2012), en *S. stellatus* se ha reportado de 10 a 15 veces más este contenido de fenoles solubles totales (Beltrán-Orozco *et al.*, 2009).

Cuadro 4. Composición bromatológica, mineral y química de dos especies de pitaya (García-Cruz *et al.*, 2013; Beltrán-Orozco *et al.*, 2009; Granado-Sánchez *et al.*, 1999; Luna-Morales, 2006).

Componente	<i>S. pruinosus</i>	<i>S. stellatus</i>
Análisis proximal		
Agua (%)	87-89	86.33
Carbohidratos (%)	8.5-10	85.23*
Proteína (%)	1.2-1.3	7.33*
Extracto etéreo (%)	0.10-0.12	2.07*
Fibra cruda (%)	0.53-0.67	1.83*
Cenizas (%)	0.61-0.63	3.54*
Análisis de minerales		
P (mg/kg)	3.4-3.6	NR
K (mg/kg)	1.1-1.2	NR
Ca (mg/kg)	0.9-0.95	NR
Mg (mg/kg)	2.15-2.35	NR
Fe (mg/kg)	22.8-27.9	NR
Cu (mg/kg)	9.67-14.31	NR
Zn	7.04-8.77	NR
Mn	4.36-4.61	NR
Análisis químico		
Sólidos solubles totales	9.3-17.25	9.0-11.0
pH	5.0-5.5	3.7-4.5
acidez titulable (% de ácido málico)	0.13-0.17	0.25-0.53
vitamina C	NR	8.5-17

*Base seca; NR: no reportado

2.12 Betalaínas

Las betalaínas son un grupo de pigmentos hidrosolubles responsables de la coloración de flores, frutos y en algunos casos raíces y hojas en las plantas del orden Cariofilales,

excepto en las familias Cariofilaceae y Moluginaceae, en donde los pigmentos que se encuentran presentes son las antocianinas (Tanaka *et al.*, 2008). Las betalaínas y las antocianinas son dos familias de pigmentos que nunca se encuentran juntas en la misma planta y esta divergencia es un buen ejemplo de la importancia taxonómica de los productos secundarios de las plantas (Strack *et al.*, 2003). Las betalaínas se han dividido en dos grupos: betacianinas, de color violeta, y betaxantinas, de color amarillo. Anteriormente, estos compuestos habían sido erróneamente nombrados como antocianinas nitrogenadas a las betacianinas y flavocianinas a las betaxantinas (Stintzing y Carle, 2007). Éstas últimas son productos de condensación del ácido betalámico y una amina primaria o secundaria, mientras que las betacianinas, se caracterizan por tener unida al ácido betalámico una estructura de ciclo-dihidroxifenilalanina (ciclo-DOPA) con sustituciones adicionales a través de diferentes glicosilaciones y acilaciones en los carbonos 5 y 6 (Stintzing y Carle, 2004) (Figura 5). La mayoría de las betalaínas naturales deben su nombre al género de la planta en donde se han descrito, al cual se ha añadido el sufijo “cianina” (del griego kyanos, que significa azul) para las betacianinas, o “xantina” (del griego xanthos, que quiere decir amarillo) para las betaxantinas (García-Carmona *et al.*, 2011, Delgado-Vargas *et al.*, 2000). Al igual que las antocianinas, las betalaínas pierden coloración bajo influencia de pH, luz, altas temperaturas, oxígeno y actividad de agua (Badui, 2006), sin embargo, las betalaínas son más hidrosolubles, tienen un poder de coloración tres veces mayor y presentan estabilidad en un intervalo de pH más amplio que el de las antocianinas, por lo que su aplicación como colorante en la industria alimentaria es más prominente (Stintzing y Carle, 2007).

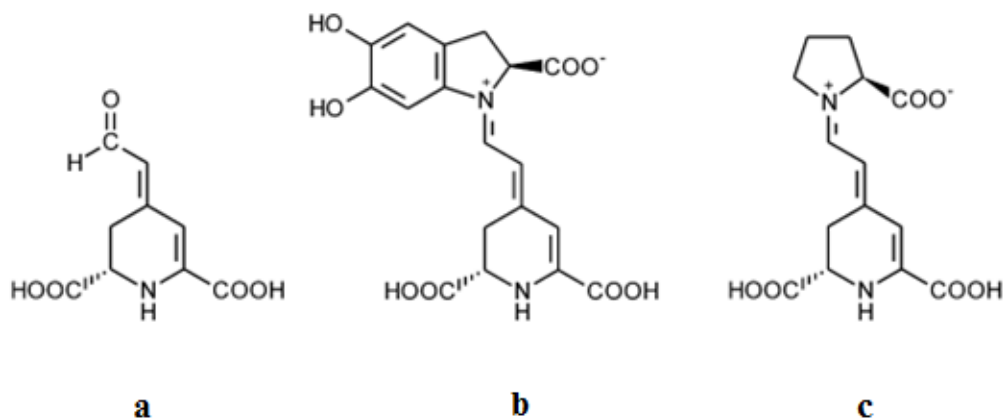


Figura 5. a) Ácido betalámico, b) betanidina y c) indicaxantina.

2.12.1 Betacianinas

Este grupo de pigmentos brinda coloraciones rojo-púrpura y presenta su máximo de absorción a una longitud de onda de 540 nm (Delgado-Vargas *et al.*, 2000); sin embargo, puede cambiar dependiendo del disolvente de extracción. Representan del 75-95 % de betalainas y son más estables que las betaxantinas (Fennema y Dekker, 1996). La primer betacianina identificada fue la betanina, que se aisló del betabel (Stinzting y Carle, 2007). Las betacianinas se forman por la condensación del ácido betalámico con una unidad estructural denominada *cycloDOPA* (ciclo-dihidroxifenilalanina), a la cual se pueden incorporar azúcares y ácidos a través de uno o más de sus grupos hidroxilo, por lo que da lugar a dos familias de compuestos: los derivados de la betanina (betanidina-5-*O*- β -glucósido) y los derivados de la gomfrenina I (betanidina-6-*O*- β -glucósido) (García-Carmo *et al.*, 2011). No obstante, en total se han clasificado cuatro grupos de betacianinas (Cuadro 5), dentro de los cuales se tienen subgrupos que engloban todas las

betacianinas identificadas hasta el momento. En comparación con las antocianinas, un número mucho más pequeño de sustituyentes se han reportado para los betacianinas: glucosa, ácido glucurónico y apiosa son los monómeros típicos de azúcar, mientras que el ácido malónico, el ácido 3-hidroxi-3-metil-glutárico, cafeico, p-cumárico, y ferúlico representan sustituyentes típicos de ácidos (Strack *et al.*, 2003).

Cuadro 5. Grupos de betacianinas identificados en diferentes plantas del orden Cariofilales (Strack et al., 2003).

Grupo de betacianinas			
Betanina	Amarantina	Gomfrenina	2-Descarboxi-betanina
❖ Filocactina	❖ Amarantina	❖ Gomfrenina I, II y III	❖ 2-Descarboxi-betanidina
❖ 2'-apiosil-filocactina			❖ 2-Descarboxi-betanina
		❖ Betanidina 6-O-(6-O-hidroxycinnamoil)-beta-derivados de sofolosidos	❖ 6'-O-Malonil-2-descarboxi-betanina
❖ 2'-(5''-O-E-Feruloilapiosil)-betanina			
❖ Hilocerina			

2.12.2 Betaxantinas

A diferencia de las betacianinas, este grupo se forma por la condensación del ácido betalámico y un aminoácido o amina (primaria o secundaria). En la naturaleza existen más de 200 aminoácidos potenciales que podrían dar origen a las betaxantinas (Delgado-Vargas *et al.*, 2000). Estos compuestos brindan coloraciones amarillas y presentan su máximo de absorción a una longitud de onda de 480 nm, independientemente del tipo de aminoácido que se encuentre presente (Gandía-Herrero *et al.*, 2013). La estructura más simple de las betaxantinas es la de la indicaxantina, en donde al ácido betalámico se unió

al aminoácido prolina, y fue la primera betaxantina en ser aislada y se obtuvo de la (*Opuntia ficus-indica*) (Delgado-Vargas *et al.*, 2000).

A diferencia de las betacianinas y a pesar de que existe un considerable número de aminoácidos, el grupo de las betaxantinas sólo se divide en dos, los provenientes de conjugados derivados de aminoácidos y provenientes de conjugados derivados de aminas (Strack *et al.*, 2003)

Cuadro 6. Grupos de betaxantinas identificados en diferentes plantas del orden Cariofilales (Strack *et al.*, 2003).

Grupo de betaxantinas	
Conjugados derivados de aminoácidos	Conjugados derivadas de aminas
❖ Portulacaxantina II	❖ 3-Metoxitiramina-betaxantina
❖ Portulacaxantina III	❖ Betaxantinas de tuna y betabel amarillo
❖ Triptófano-betaxantina	

2.12.3 Ruta biosintética de las betaláinas

Las betaláinas son metabolitos secundarios derivados del aminoácido L-tirosina, y a diferencia de otros pigmentos como clorofilas, carotenos o antocianinas, el conocimiento de su ruta biosintética es reciente. De acuerdo con García-Carmona *et al.* (2011) la biosíntesis de las betaláinas comienza con una reacción de hidroxilación, en donde la L-tirosina se transforma en L-DOPA (dihidroxifenilalanina), cuya reacción es mediada por la tirosinasa con actividad monofenolasa. Para la formación del ácido betalámico, el cromóforo esencial de todas la betaláinas, es necesaria una oxidación de L-DOPA a 4,5-seco-DOPA, donde interviene la enzima 4,5-DOPA-extradioldioxigenasa. Una vez que se tiene este intermediario se lleva a cabo una reacción espontánea que conlleva a la

formación del ácido betalámico, la cual ocurre entre el grupo amina presente en L-DOPA y el grupo aldehído producido enzimáticamente. Como se mencionó anteriormente, la formación de betaxantinas se da por condensación del ácido betalámico con aminas o aminoácidos, y se asume que esta reacción ocurre de manera espontánea entre el grupo amino de las aminas y el grupo aldehído del ácido betalámico. Parte de la estructura de las betacianinas se origina también de la L-DOPA, la cual en presencia de la enzima tirosinasa con actividad difenolasa se oxida a O-DOPA-quinona, posteriormente ocurre una ciclación espontánea entre el grupo amino y el anillo que conlleva a la formación de la molécula leuko-DOPA-cromo, conocida también como *ciclo*-DOPA. La condensación entre ésta molécula y el ácido betalámico da origen a la betanidina, la unidad estructural de la mayoría de las betacianinas. Una tercera enzima participa en la formación de derivados de betacianinas, la glucosiltransferasa, que utiliza como sustrato a la *ciclo*-DOPA, o bien a la betanidina. Dado que la L-DOPA se utiliza también para la obtención de ácido betalámico, es necesario que se acumule y no se vaya toda a formar O-DOPA-quinona, donde el ácido ascórbico o un agente reductor análogo juega un papel muy importante, pues revierte la reacción y hace que la L-DOPA esté disponible para otras reacciones (Figura 6).

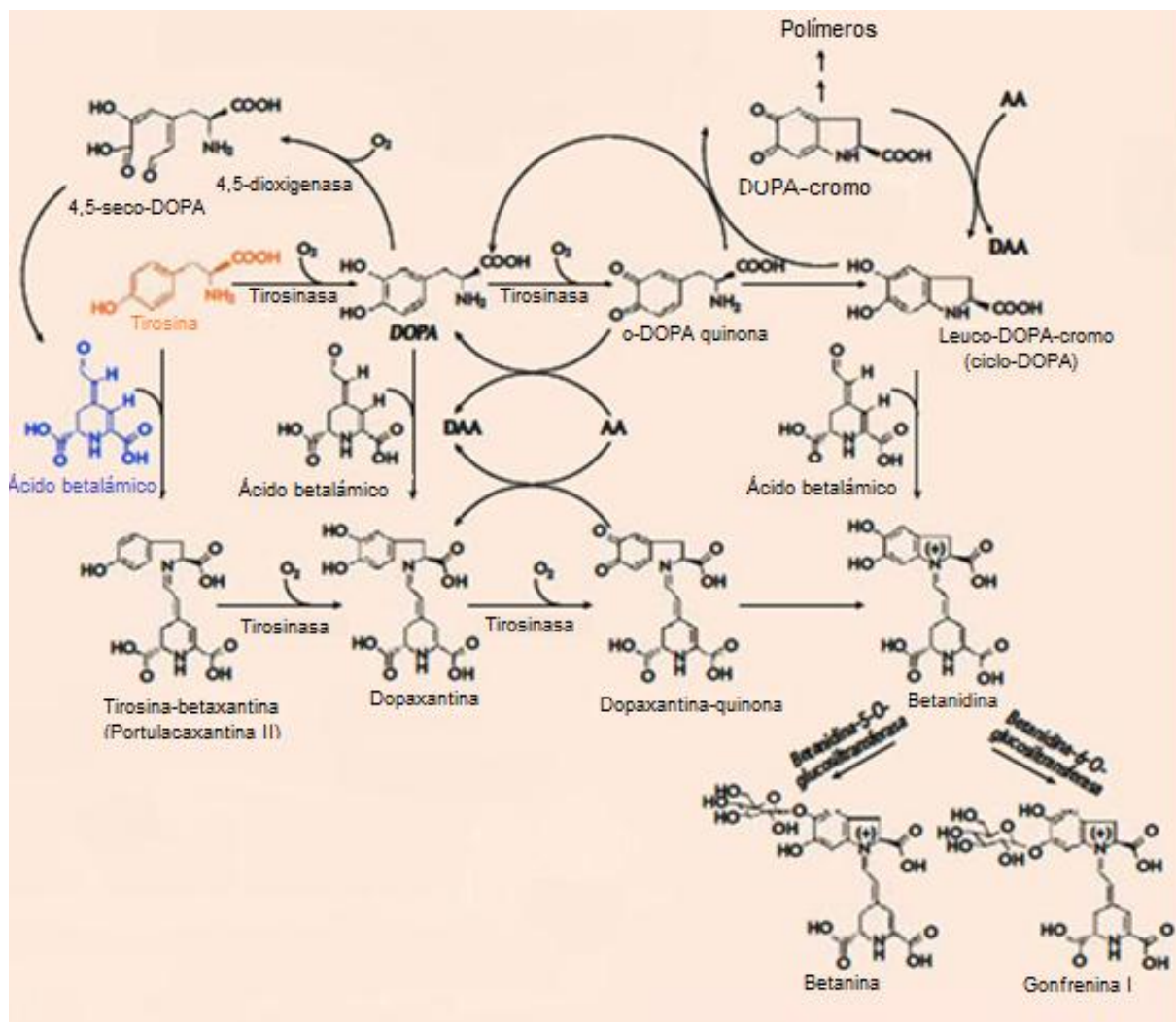


Figura 6. Ruta metabólica de las betalainas. Fuente: García-Carmona *et al.* (2011).

2.12.4 Actividad biológica

Las funciones de las betalainas en las plantas son diversas. La principal es brindar color a las flores y frutos, y por ende atraer insectos polinizadores y animales que dispersen las semillas de los frutos (Stintzing y Carle, 2004). A diferencia de las antocianinas, se ha descubierto que las betalainas presentan fluorescencia (betaxantinas), lo cual hace que sea más fácil la polinización de las flores por animales nocturnos como murciélagos

(García-Carmona *et al.*, 2011). En el betabel funcionan como reguladores osmóticos y almacén de compuestos nitrogenados, además de que proporcionan resistencia a patógenos (Piattelli, 1981).

En diversos estudios se han reportado las características antioxidantes de las betalaínas con radicales como DPPH[•] (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), ABTS[•] (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulphonic acid) u ORAC (oxygen radical absorbance capacity) en los géneros *Amaranthus* (Cai *et al.*, 2003), *Opuntia* (Yahia y Mondragon-Jacobo, 2011), *Hylocereus* (Rebecca *et al.*, 2010) y *Stenocereus* (García-Cruz *et al.*, 2013), además de que ensayos *in vitro* sugieren que las betalaínas tienen varias propiedades benéficas a la salud, por ejemplo inhibir la peroxidación de lípidos y su hemólisis (Kanner *et al.*, 2001), actividad antiproliferativa en células de melanoma maligno (Wu *et al.*, 2006), protegen a las células endoteliales de la oxidación relacionada con la respuesta inflamatoria (Gentile *et al.*, 2004), En ensayos *in vivo* se ha encontrado que las betalaínas tienen la capacidad para inducir la producción de quinona reductasa, una potente enzima de desintoxicación asociada con la quimio prevención del cáncer (Lee *et al.*, 2005). Asimismo, protegen a los glóbulos rojos de la sangre y evitan la hemólisis oxidativa (Tesoriere *et al.*, 2005), además de los resultados promisorios en la prevención contra cáncer de ovario en ratones (Zou *et al.*, 2005).

III.- LITERATURA CITADA

- Armella, M. A., L. Yañez-López, S. J. Soriano and R. G. Ramírez. 2003. Phenology, postharvest, physiology and marketing of pitaya (*Stenocereus griseus*.) as a sustainable resource. *Acta Horticulturae* 598:251-254
- Bonilla, B. J.J., Martínez, G. J. C., Roa D. R., Juárez P. C. y López, M. A. 2001. Informe final del proyecto 4538. Estudio del potencial y perspectivas de la fruticultura de caducifolios y cactáceas. SAGARPA-INIFAP-CIRCE-CETECA. s/p.
- Bravo-Hollis, H.1978. Las cactáceas de México, vol. I. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 743 p.
- Bravo-Hollis, H. y Sánchez-Mejorada. 1991. Las cactáceas de México. Vol. III. Tercera edición. UNAM. México. D.F. 643 p.
- Cai, Y., M. Sun and H. Corke. 2003. Antioxidant activity of betalains from plants of the Amaranthaceae. *J. Agric. Food Chem.* 51: 2288-2294.
- Campos-Rojas, E., Pinedo-Espinoza, J. M., Campos-Montiel, R. G., Hernández-Fuentes, A. D. 2011. Evaluación de plantas de pitaya (*Stenocereus spp*) de poblaciones naturales de Monte Escobedo, Zacatecas. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 17(3): 173-182.
- Casas, A., Caballero, J. and Valiente-Banuet, A. 1999. Use, management and domestication of columnar cacti in south-central México: a historical perspective. *Journal of Ethnobiology.* 19 (1):71-95 .

- Casas, A., Pickersgill, B., Caballero, J. and Valiente-Banuet, A. 1997. Ethnobotany and domestication in xoconochтли, *Stenocereus stellatus* (Cactaceae), in Tehuacán Valley and La Mixteca Baja, México. *Economic Botany*. 51 (3):279-292.
- Casas, A., Cruse-Sanders, J., Morales, E., Otero-Arnaiz, A., and Valiente-Banuet, A. 2006. Maintenance of phenotypic and genotypic diversity in managed populations of *Stenocereus stellatus* (Cactaceae) by indigenous peoples in central Mexico. *Biodiversity and Conservation*. 15: 879-898.
- Delgado-Vargas, F., Jiménez, A. R. and Paredes-López, O. 2000. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains- characteristics biosynthesis, processing, and stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 40 (3): 173-289.
- Fennema, O. R. y M. Dekker. 1996. *Química de los alimentos*. Nueva York. p 826-833.
- Gandía-Herrero, F., Cabanes, J., Escribano, J., García-Carmona, F. and Jiménez-Atiénzar, M. 2013. Encapsulation of the most potent antioxidant betalains in edible matrixes as powders of different colors. *J. Agric. Food Chem*. 61: 4294-4302.
- García-Carmona, F., F. Gandía-Herrero y J. Escribano. 2011. Flores fluorescentes. *Investigación y ciencia*. 415: 50-57.
- García-Cruz, L., Salinas-Moreno, Y. y Valle-Guadarrama, S. 2012. Betalaínas, compuestos fenólicos y actividad antioxidante en pitaya de mayo (*Stenocereus griseus* H.). *Rev. Fitotec. Mex*. 35 (1): 1-5.
- García-Cruz, L., Valle-Guadarrama, S., Salinas-Moreno, Y. and Joaquín-Cruz, E. 2013. Physical, chemical, and antioxidant activity characterization of pitaya (*Stenocereus pruinosus*) fruits. *Plant Foods for Human Nutrition* 68 (4): 403-410.
- Gentile, C., Tesoriere, L., Allegra, M., Livrea, M.A. and D'Alessio, P. 2004. Antioxidant betalains from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) inhibit endothelial ICAM-1 expression. *Signal Transduction and Communication in Cancer Cells*. 1028: 481-486.

- Gibson, A.C. y Horak, E. 1978. Systematics, anatomy and phylogeny of Mexican columnar cacti. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 65(4): 999-1057.
- Granado-Sánchez, D., Mercado, A. y Florencia, G. 1999. Las pitayas de México. *Ciencia y Desarrollo*. 145(25):59-67.
- Lee, C. H., Wettasinghe, M., Bolling, B. M., Ji, L. L. and Parkin, K. L. 2005. Betalaíns, phase II enzyme-inducing components from red besstroot (*Beta vulgaris* L.) extracts.
- Luna-Morales, C. Del C. 2004. Recolección, cultivo y domesticación de cactáceas columnares en la Mixteca Baja, México. *Revista Chapingo, serie horticultura*. 10(2):95-102.
- Luna-Morales, C. Del C. 2006. Clasificación y ordenación morfológica del fruto de variantes cultivadas de pitaya (*Stenocereus pruinosus* (Otto) Buxb.) en la mixteca baja de México. *Rev. Chapingo. Serie Horticultura*. 12(2): 245-251.
- Luna-Morales, C. Del C. 2007. Ordenación y clasificación morfológica del fruto de cultivares mixtecos de pitaya (*Stenocereus pruinosus*) en México. *Agrociencia*. 11(2): 10-16.
- Luna-Morales, C. Del C., Aguirre-Rivera, J. R. y Peña-Valdivia, C. B. 2001. Cultivares tradicionales mixtecos de *Stenocereus pruinosus* y *S. stellatus* (cactaceae). *Anales del Instituto de Biología. Serie Botánica*. 72 (2):131-155.
- Martínez-González, J. C. y Bonilla-Bada, J. J. 2005. Situación de la pitaya de mayo *Stenocereus pruinosus* (Otto) Buxbaum en tres localidades de la Mixteca Baja. *Revista de Geografía Agrícola*. 34: 75-90.
- Nobel, P. 2002. *Cacti biology and uses*. University of California press. Los Angeles, California. 290 p.

- Parra F., Blancas J. J. and Casas, A. 2012. Landscape management and domestication of *Stenocereus pruinosus* (cactaceae) in Tehuacan Valley: human guided selection and gene flow. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*. 8:32.
- Piattelli, M. 1981. The betalainas: structure, biosynthesis, and chemical taxonomy. In E.-E. Conn (Ed.). *The biochemistry of plants*, 7, secondary plant products. New York: Academic Press. Pp. 557-573.
- Pimienta-Barrios, E. y Nobel P. S.. 1994. Pitaya (*Stenocereus* spp, Cactaceae): an ancient and modern fruit crop of Mexico. *Economic Botany* 48(1):76-83.
- Pimienta-Barrios, E., Pimienta-Barrios, E., and Nobel, P. S. 2004 Ecophysiology of the pitayo de Querétaro (*Stenocereus queretaroensis*). *Journal of Arid Environments*. 59:1-17.
- Rebecca, O. P. S., Boyce, A. N., Chandran, S. 2010. Pigment identification and antioxidant properties of red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*). *African Journal of Biotechnology*. 9 (10): 1450-1454.
- Rosales-Bustamante, E. P., Luna-Morales, C. del C., Cruz-León, A. 2009. Clasificación y selección tradicional de pitaya (*Stenocereus pruinosus* (Otto) Buxb.) en Tianguistengo, Oaxaca y Variación morfológica de cultivares. *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 15(1): 75-82.
- SAGARPA. 2012. Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera. Producción anual de pitaya. Disponible en <http://www.siap.gob.mx>. 19 de diciembre de 2013
- Tanaka, Y., Sasaki, N. and Ohmiya A. 2008. Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalainas and carotenoids. *The Plant Journal*. 54: 733-749.
- Tesoriere, L., Butera, D., Allegra, M., Fazzari, M and Livrea, MA. 2005. Distribution of betalain pigments in red blood cells to ex vivo induced oxidative hemolysis in humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53(4):1266-1270.

Yahia, E. M, and Mondragon-Jacobo, C. 2011. Nutritional components and anti-oxidant capacity of ten cultivars and lines of cactus pear fruit (*Opuntia* spp.). Food Research International. 44:2311-2318.

Wu L-C, Hsiu-Wen, H., Yun-Chen, C., Chih-Chung, C., Yu-In, L. and Ja-An, A. H. 2006 Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. Food Chem. 95:319-327.

Zou, D. M., Brewer, M., Garcia, F., Feugang, J. M., Wang, J., Zang, R., Liu, H. and Zou, C. 2005. Cactus pear: a natural product in cancer chemoprevention. Nutrition Journal. 4: 25.

IV. CAPITULO 1. COMPORTAMIENTO POSTCOSECHA EN FRUTOS DE PITAYA (*Stenocereus pruinosus* y *S. stellatus*) ALMACENADOS A TEMPERATURA AMBIENTE

García-Cruz, L., Valle-Guadarrama, S., Salinas-Moreno, Y., Ybarra-Moncada, Ma. C., Luna-Morales, C. C.

RESUMEN

Los frutos de pitaya son considerados como frutos exóticos, tienen buena aceptación y alto potencial en el mercado de frutas frescas; no obstante, su consumo se limita a las zonas de producción debido a que tienen corta vida postcosecha. Por ello en el presente estudio se trabajó con dos especies de pitaya: *Stenocereus pruinosus* en sus variantes roja (SpR) y naranja (SpN) y *Stenocereus stellatus* en sus variantes roja (SsR) y blanca (SsB) con el objetivo de caracterizar morfológica, fisiológica y fisicoquímicamente sus frutos almacenados durante 10 días a una temperatura de 24 °C y 90 % de HR. Los frutos de las dos especies de pitaya presentaron un comportamiento postcosecha característico de los frutos no climatéricos. Los SST, acidez titulable, pH, color, contenido de fitoquímicos y actividad antioxidante, se mantuvieron constantes a través del periodo de almacenamiento. Los mayores cambios se observaron en la velocidad de respiración, contenido de etanol, pérdida de peso, grosor de epidermis, firmeza y concentración de azúcares totales. El deterioro de los frutos se vio acelerado por la proliferación de hongos

Palabras clave: cactáceas, no climatérico, vida postcosecha, *Stenocereus pruinosus*, *Stenocereus stellatus*

ABSTRACT

The pitaya fruits are considered exotic fruits, have very good acceptance and high potential in the fresh fruit market, however, its use is limited to the production areas because they have short postharvest life. Therefore, in this study worked with two species of pitaya: *Stenocereus pruinosus* in their red variants (SpR) and orange (SpO) and *Stenocereus stellatus* in their red variants (SsR) and white (SsW) in to characterize morphological, physiological and physicochemically its fruit stored for 10 days at temperature of 24 °C and 90 % relative humidity. The fruits of the two species of pitaya presented a postharvest behavior characteristic of non-climacteric fruit. TSS, titratable acidity, pH, color, phytochemical content and antioxidant activity remained constant throughout the storage period. The biggest changes was observed in the rate of respiration, ethanol content, weight loss, skin thickness, firmness and total sugar concentration. The deterioration of the fruit was accelerated by the proliferation of fungi.

Key words: cacti, non-climacteric, postharvest shelf, *Stenocereus pruinosus*, *Stenocereus stellatus*.

4.1 INTRODUCCIÓN

Pitaya es el nombre que se le ha dado a los frutos provenientes del género *Stenocereus*, el cual se caracteriza por tener cactus columnares que se desarrollan en las zonas áridas y semiáridas de México (Nobel, 2002), se incluyen aquí especies importantes por el valor comercial de sus frutos como *S. queretaroensis* (F. A. C. Weber) Buxbaum, *S. griseus* (Haworth) Buxbaum, *S. pruinosus* y *S. stellatus* (Pfeiffer) Riccobono (Otto) Buxb (García-Suárez et al., 2007), cuyos frutos pueden pesar de 20 a 200 g, tener pulpa de sabor agradable y con distintas tonalidades, contienen semillas pequeñas, suaves y comestibles, y espinas caducas en la epidermis. En las mixtecas de Oaxaca y Puebla se concentra el 58 % de la producción de pitaya (SAGARPA, 2012), a través de las especies *S. pruinosus* y *S. stellatus*, conocidas localmente como pitaya de mayo y pitaya de agosto o xoconochtli respectivamente, las cuales son cultivadas en huertos de traspatio, huertos comerciales, o bien recolectadas de plantaciones abandonadas o plantas silvestres (Parra et al, 2012; Casas et al., 1999). A diferencia de *S. queretaroensis*, los frutos de estas especies no son dehiscentes (Esquivel, 2004) por lo que no se corre el riesgo de contaminación en la pulpa.

En las especies *S. pruinosus* y *S. stellatus* se tiene una problemática diversa; en primera los índices de cosecha de aún no están bien definidos, y los productores se basan más bien en el cambio de coloración, el brillo de la epidermis y el desprendimiento de las espinas. En segundo lugar, se tiene una corta vida de anaquel, la cual varía de

aproximadamente 4 a 5 días aproximadamente (Armella *et al.*, 2003) y por último, a diferencia de los frutos de otras cactáceas como *Opuntia* e *Hylocereus*, la presencia de espinas dificulta la cosecha y manejo, por lo que los frutos sufren diversos daños mecánicos que demeritan la calidad.

La comercialización de estos frutos se realiza en mercados regionales (Rosales-Bustamante, 2006), lo cual es originado principalmente por la corta vida de anaquel, por lo que es importante conocer las bases de su comportamiento postcosecha y así, posteriormente, investigar y desarrollar tecnologías que puedan prolongar su vida útil. En este sentido, el objetivo del presente estudio fue caracterizar morfológica, fisiológica y fisicoquímicamente los frutos de dos especies de pitaya (*Stenocereus* spp) almacenados durante 10 días a una temperatura de 24 °C y 90 % de humedad relativa.

4.2 MATERIALES Y MÉTODOS

4.2.1 Material vegetal

Se trabajó con los frutos de dos especies de pitaya *S. pruinosus* y *S. stellatus*, desarrollados en el región de Tepexi de Rodríguez, Puebla (18° 35' 46'' N y 97° 55' 48'' O; 1644 msnm). En cada especie se trabajó con dos variantes, en la primera fueron las variantes roja (*SpR*) y naranja (*SpN*) y para el caso de *S. stellatus* las variantes fueron roja (*SsR*) y blanca (*SsB*), por ser las que más se comercializan en la región de colecta. La condición fisiológica a la cual se hizo la colecta correspondió a madurez comercial, que ocurre cuando las espinas se desprenden con facilidad y la cáscara adquiere brillo.

Los frutos se transportaron en cajas de plástico a la Universidad Autónoma Chapingo donde se desinfectaron en una solución de hipoclorito de sodio (100 ppm) y se almacenaron a temperatura ambiente (24 °C) y humedad relativa (HR) de 90 %, para evaluar su comportamiento postcosecha. Se realizaron muestreos diariamente durante 11 días, la unidad experimental consistió en 2 frutos por variante y se tuvieron 3 repeticiones.

4.2.2 Características fisiológicas

4.2.2.1 Pérdida de peso

Todos los frutos fueron pesados al inicio del experimento y durante los días de muestreo en una balanza digital (Ohaus, USA). La pérdida de peso se expresó en porcentaje.

4.2.2.2 Velocidad de respiración

Se determinó con un método estático (Mendoza-Wilson y Báez-Sañudo, 2000). La unidad experimental se colocó en un recipiente cerrado, previamente ventilado, durante 45 min. Posteriormente se tomaron muestras del contenido gaseoso del espacio de cabeza, las cuales se guardaron en viales herméticamente cerrados para su posterior evaluación de la concentración de CO₂. En la cuantificación de CO₂ se utilizó el método colorimétrico de Claypool y Keefer (1942) con algunas modificaciones. Se elaboró una curva patrón de CO₂ con 99.9% de pureza, a concentraciones de 0, 0.02, 0.06, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.9, y 1 ppm. Para determinar la tasa respiratoria se utilizó la Ecuación (1).

$$g_{CO_2} = \frac{(y_{CO_2}^f - y_{CO_2}^i) * V_L}{(m * t)} \quad (1)$$

Donde $y_{CO_2}^f$ y $y_{CO_2}^i$ son las concentraciones final e inicial de CO₂, V_L es el volumen libre (mL), m es la masa de la unidad experimental (kg) y t es el tiempo de evaluación.

4.2.2.3 Etanol/acetaldehído

Se tomaron muestras de 10 g de pulpa y se depositaron en viales de 25 mL que posteriormente fueron sellados y guardados en congelación a -20 °C, hasta su evaluación. La cuantificación de metabolitos anaerobios se realizó por el método de espacio de cabeza (Davis y Chase, 1969). Cada vial se incubó por 15 minutos en baño maría a 30 °C. Posteriormente se tomó 1 mL del espacio de cabeza y se inyectó en el cromatógrafo de gases (Bruker Co. Marca: Varian, modelo 3400 CX, Fremont, CA, EUA), las temperaturas a las que opera son 150, 170 y 180 °C en la columna, inyector y detector, respectivamente. El contenido se determinó utilizando curvas tipo de etanol y acetaldehído.

4.2.3 Características físicas

4.2.3.1 Color

Se determinó con un colorímetro Hunter Lab (Mini Scan XE Plus 45/0-L, USA) en escala CieLab (L^* , a^* , b^*). Con los valores de a^* y b^* se calculó ángulo de matiz (Hue) y la pureza del color (Croma), en tanto que L^* se tomó como luminosidad (Sant'Anna *et al.*, 2013). Estas variables se determinaron en cáscara y pulpa.

4.2.3.2 Firmeza

Se evaluó en la zona ecuatorial de los frutos, misma que se hizo en cáscara y pulpa con un equipo de medidor de textura (Stable Micro Systems, modelo TAxT2i). En el caso de la cáscara se utilizó un puntal de aguja, en tanto que en la pulpa se utilizó un puntal cónico con 0.255 mm de diámetro. Se empleó una rutina de medida de fuerza en compresión uniaxial, con una distancia de penetración de 5 mm. Las velocidades de preensayo, ensayo y postensayo fueron de 4, 1 y 5 mm·s⁻¹, respectivamente y una celda de carga de 5 kg. Los resultados se expresaron en Newtons.

4.2.3.3 Grosor de cáscara

Se tomó en la parte ecuatorial de los frutos y se midió colocando el tejido en medio de dos portaobjetos y la lectura se tomó con un pie de rey, y se expresó en cm.

4.2.4 Características químicas

4.2.4.1 Sólidos solubles totales

Se determinó con un refractómetro portátil Abbe (Atago Co. Ltd., modelo: 211 -W10 (N-1E), Tokio, Japón) con escala 0-32 °Brix en el cual se colocó una gota del jugo de las muestras. Los resultados se expresaron en °Brix.

4.2.4.2 pH

Para evaluar el pH de las muestras se tomaron 5 g de pulpa macerada y se le agregaron 50 mL de agua destilada. La mezcla se homogeneizó con un agitador de vidrio y se filtró con “manta cielo” para obtener el extracto en el cual se tomó la lectura con un potenciómetro portátil (Hanna Instruments, modelo HI 8420, Padua, Italia).

4.2.4.3 Acidez titulable

Del extracto en el cual se evaluó el pH se tomó una alícuota de 10 mL que se tituló con una solución de NaOH 0.01N. La acidez se expresó en función del ácido málico y la cuantificación se determinó con base a la Ecuación (2).

$$\% \text{ ácido málico} = \frac{mL \text{ NaOH gastados} * N * 0.067 * FD}{Alícuota} \times 100 \quad (2)$$

Donde: N es la normalidad de NaOH y FD es el factor de dilución.

4.2.4.4 Extracción de betalaínas

Se pesaron 2 g de pulpa macerada y se colocaron en un matraz Erlenmeyer, se añadieron 20 mL de metanol acuoso 80% (v/v). Las muestras se trataron por 10 min en un baño sonicador (Brason model 2510), y luego se agitaron por 20 min a temperatura de cuarto y en oscuridad, se centrifugaron a 2200 g durante 10 min (Hettich zentrifugen, Mod. Universal 32). El sobrenadante se guardó y al residuo se le realizó una segunda extracción con la misma metodología. Los sobrenadantes se juntaron, se filtraron con papel Whatman No. 4 y se guardaron en congelación para análisis posterior. El contenido de betacianinas y betaxantinas se determinó según lo descrito por Castellanos-Santiago *et al.* (2008) y Gandía-Herrero *et al.* (2010), de acuerdo con la Ecuación (3).

$$B[mg/g] = \frac{A * FD * PM * V}{\epsilon * P * L} \quad (3)$$

Dónde B es concentración de betacianinas o betaxantinas, A es absorbancia a 538 nm para el caso de betacianinas y 483 nm para betaxantinas, FD es factor de dilución al momento de leer en el espectrofotómetro, PM es peso molecular (550 g/mol para

betanina y 308 g/mol para indicaxantina), V es el volumen de aforo (mL), ϵ es coeficiente de extinción molar (betanina: 60 000 L/mol·cm e indicaxantina: 48 000 L/mol·cm), P es el peso de la muestra (g) y L es longitud de la celda (1 cm).

Los resultados se expresaron como contenido betalaínas totales por cada 100 g de muestra fresca, que corresponde a la suma del contenido de betacianinas y betaxantinas.

4.2.4.5 Determinación de fenoles solubles totales

La determinación se realizó a partir del extracto metanólico obtenido para la cuantificación de betalaínas. Se utilizó el método de Folin-Ciocalteu (Singleton y Rossi, 1965) que consistió en tomar 100 μ L del extracto a los cuales se les agregaron 125 μ L del reactivo Folin-Ciocalteu 1N. La mezcla se agitó y se dejó reposar durante 6 minutos. Posteriormente se agregaron 1250 μ L de carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 19 % (v/v) y se hizo aforo a 3 mL con agua destilada. Finalmente se aplicó reposo a temperatura de cuarto en oscuridad por 90 min. Las muestras se centrifugaron a 15300 g por 10 min para eliminar la turbidez. Se tomó la absorbancia de las muestras en un espectrofotómetro a 760 nm. El contenido de fenoles solubles totales se determinó con base en curvas tipo de ácido gálico y los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico (EAG) por cada 100 g de muestra fresca.

4.2.4.6 Actividad antioxidante

Se preparó una solución 7 mM de ABTS (2-2'-azino-bis (3-etilbenztiazolina-6- ácido sulfónico)) en agua destilada y otra 2.45 mM de persulfato de potasio, las cuales se combinaron en una relación de 2:1. La mezcla se dejó reposar 16 h en oscuridad, para permitir la generación del radical libre. Después se diluyó con un buffer de fosfatos pH

7.4 hasta tener una absorbancia de 0.7 ± 0.001 a 734 nm (Wu *et al.*, 2006). Para determinar la capacidad antioxidante de los extractos se colocaron 200 μ L de muestra en la celda del espectrofotómetro y posteriormente se adicionaron 2800 μ L de la mezcla de ABTS con persulfato de potasio y se midió la absorbancia cada minuto durante siete minutos. En el cálculo del porcentaje de ABTS reducido se usó la Ecuación (4)

$$\% ABTS_{reducido} \left[\frac{Abs_0 - Abs_n}{Abs_0} \right] * 100 \quad (4)$$

Dónde Abs₀ es el valor de absorbancia del blanco (200 μ L de buffer de fosfatos y 2800 μ L de la solución de ABTS) y Abs_n es el valor de absorbancia de la muestra al tiempo t

En adición, se preparó una curva patrón de Trolox (6-hydroxy-2, 5, 7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) a diferentes concentraciones (50, 150, 200, 250 y 300 μ M), el estándar se solubilizó en un buffer de fosfatos de pH 7.4. Los resultados se expresaron como μ moles equivalentes de Trolox (ET).

4.2.4.7 Análisis de resultados

En la caracterización inicial de los frutos se utilizó un análisis multivariado de varianza (MANOVA) con correlación canónica y comparación de medias de Tukey ($\alpha=0.5$) en la primera variable canónica.

Para el análisis de datos del comportamiento postcosecha se utilizó un diseño experimental mixto con un análisis de varianza y comparación de medias de Tukey ($\alpha=0.5$), donde los factores fijos fueron los tratamientos y el factor aleatorio el tiempo de almacenamiento. Los resultados se analizaron con el paquete estadístico SAS.

4.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.3.1 Caracterización inicial

El análisis multivariado de varianza arrojó que existieron diferencias significativas entre los grupos de medias de los tratamientos, con valor de Lambda de Wilks de 0.000039 ($p < 0.0001$).

Cuadro 7. Análisis canónico de las variables de caracterización física de *S. pruinosa* y *S. stellatus*.

Variable	Correlación canónica	Valores propios	Proporción de la variabilidad
1	0.9969	164.79	0.87
2	0.9686	15.19	0.08
3	0.945	8.36	0.04

De las 14 variables medidas en la caracterización física (Cuadro 8) el análisis multivariado de varianza (Manova) las agrupó sólo en tres (Cuadro 7), en donde la primera variable canónica explicó el 87 % de la variabilidad de los datos. Debido a esto, dicha variable canónica (*Can1*) fue la única que se siguió analizando. Las variables que mayor peso ejercieron sobre la variable *Can1* fueron el ángulo de tono en la pulpa, el diámetro polar, el índice de forma, la luminosidad en pulpa y el índice de saturación de color en cáscara y pulpa (Cuadro 8); sin embargo, el ángulo de tono en pulpa fue la única variable que está altamente correlacionada con la variable canónica (*Can1*) y

donde además la correlación fue significativa. Por lo tanto, las diferencias observadas en las variantes de pitaya se deben principalmente al ángulo de tono en la pulpa y en menor grado a las variables que mayor peso ejercen sobre la variable canónica. De acuerdo con la comparación de medias (Tukey, $\alpha=0.05$) efectuada sobre la variable *Can1*, la cual agrupa a todas las variables evaluadas, la variante SsB fue estadísticamente diferente al resto, mientras que entre las variantes SpR y SsR no existieron diferencias significativas, así como entre las variantes SsR y SpN (Cuadro 8).

Los frutos con mayor peso se observaron en la variante SpN, mientras que los de menor peso fueron los de la SpR; sin embargo, como se puede apreciar en el Cuadro 8, las variantes SpR y SpN presentaron una mayor variabilidad, lo cual puede ser atribuido a que son materiales criollos, pues aún no se tienen variedades bien establecidas (Armella *et al.*, 2003). De acuerdo con el índice de forma, las variantes SpR y SpN presentan una forma ovalada, mientras que SsR y SsB son más esféricas, debido a que este parámetro es más cercano a la unidad para el caso de las dos últimas variantes.

Cuadro 8. Caracterización física de *Stenocereus pruinosus* en sus variantes roja (SpR), naranja (SpN) y *Stenocereus stellatus* en sus variantes roja (SsR) y blanca (SsB).

Característica	Variantes				Coefficiente canónico estandarizado	Correlación Pearson
	SpR	SpN	SsR	SsB	Can1	Can1
Peso (g)	171.15 ± 51.85	195.46 ± 51.23	91.26 ± 12.58	127.08 ± 19.30	0.6833	-0.3143
Densidad (kg/m ³)	965.85 ± 49.9	1012.72 ± 34.21	1022.06 ± 12.58	1036.97 ± 32.30	-0.3273	0.6857
D. ecuatorial (cm)	6.46 ± 0.56	6.05 ± 0.78	5.34 ± 0.26	5.62 ± 0.42	1.933	0.5664
D. polar (cm)	7.59 ± 0.99	8.73 ± 1.09	5.63 ± 0.35	5.91 ± 0.53	-5.155	0.4335
Índice de forma	0.86 ± 0.06	0.70 ± 0.06	0.95 ± 0.7	0.95 ± 06	-2.463	0.6681
Color en cáscara						0.6681
Luminosidad (%)	37.19 ± 4.50	44.68 ± 1.86	36.79 ± 3.70	44.21 ± 3.18	0.927	-0.5231
Ángulo de tono	62.16 ± 17.28	92.57 ± 8.29	86.55 ± 17.76	107.00 ± 2.86	0.424	0.4769
Índice de saturación	12.57 ± 4.06	19.28 ± 2.78	11.83 ± 2.53	18.85 ± 1.67	-1.185	0.5435
						0.4565

Cuadro 9. Caracterización física de *Stenocereus pruinosus* en sus variantes roja (SpR), naranja (SpN) y *Stenocereus stellatus* en sus variantes roja (SsR) y blanca (SsB) (Continuación).

Característica	Variantes				Coefficiente canónico estandarizado	Correlación Pearson
	SpR	SpN	SsR	SsB	Can1	Can1
Color en pulpa						
Luminosidad (%)	19.34 ± 2.76	26.07 ± 5.76	14.70 ± 1.85	40.48 ± 4.3	2.385	0.8813 0.1186
Ángulo de tono	19.85 ± 3.34	31.22 ± 6.38	15.81 ± 1.16	91.21 ± 5.77	7.413	0.9671 0.0328
Índice de saturación	26.19 ± 7.75	39.12 ± 6.44	16.59 ± 4.14	5.87 ± 1.74	-1.861	-0.7955 0.2045
Firmeza cáscara (Newtons)	1.71 ± 0.12	1.59 ± 0.25	2.05 ± 0.67	2.36 ± 0.54	-0.315	0.8499 0.1501
Número de areolas/cm2	0.15 ± 0.05	0.18 ± 0.03	0.25 ± 0.05	0.28 ± 0.06	-0.2044	0.6962 0.3038
Grosor de cáscara	0.59 ± 0.08	0.58 ± 0.14	0.52 ± 0.11	0.43 ± 0.10	0.3838	-0.9181 0.0819
Can1⁺	-32.93 b	-34.86 C	-33.27 bc	-11.21 a		
DHS*	1.773	1.773	1.773	1.773		

⁺Variable canónica

*Diferencia honesta significativa

Letras iguales entre columnas de tratamientos indican diferencia no significativa (Tukey, α=0.05) en la variable Can1

Como se discutió anteriormente, la diferencia principal entre las cuatro variantes radica en los parámetros de color. El color del epicarpio en SsB presentó valores de Hue entre 103 y 109 °, que de acuerdo a la escala CIELAB se ubica dentro de los tonos verdes, SpN tuvo valores ligeramente inferiores a SsB, no obstante el color de su epicarpio también es verde (Figura 7). SpR y SsR ambas tienen el epicarpio de color rojo. En cuanto al color en la pulpa, a excepción de SsB, todas las variantes presentaron valores de luminosidad bajos, lo cual se debió a que los pigmentos que brindan coloración a la pulpa son las betalaínas, que a diferencia de las antocianinas, no otorgan colores brillantes (Stintzing y Carle, 2004). El ángulo de tono de la pulpa de SpR y SsR indica que dichas variantes presentan una coloración rojo oscura, no obstante, de acuerdo al croma, el de la variante SpR es más puro que el de SsR. El color de SpN es naranja-rojizo y tiene la mayor pureza que el resto de variantes de pitaya analizadas. De acuerdo con lo obtenido en el ángulo de tono, el color de SsB es amarillo; sin embargo, al tomar en cuenta el valor del índice de saturación se puede notar que es muy bajo, por lo que el color es más bien grisáceo.

La firmeza en la cáscara de las cuatro variantes de pitaya es similar, no obstante las variantes de la especie *S. stellatus* mostraron una tendencia numérica ligeramente superior a las de las especies de *S. pruinosus*. En los frutos de cactáceas como la pitahayas se han observado valores de firmeza superiores, los cuales oscilan de 3.8 a 6 N (Osuna-Enciso *et al.*, 2011; Esquivel *et al.*, 2007). Respecto al número de areolas, las variantes de *S. pruinosus* presentaron en promedio un menor número de areolas por unidad de superficie, no obstante el mayor grosor de cáscara en comparación a las

variantes de *S. stellatus*, dichos valores son similares a lo reportado en algunos genotipos de pitahaya (Esquivel *et al.*, 2007).

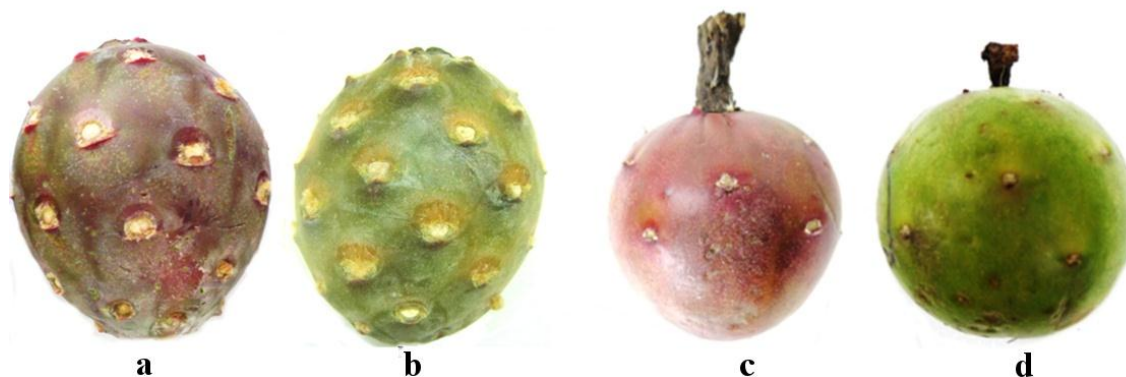


Figura 7. Frutos de pitaya de mayo (*Stenocereus pruinosus*) en sus variantes roja (a) y naranja (b), y de pitaya de agosto (*Stenocereus stellatus*) en sus variantes roja (c) y blanca (d).

4.3.2 Características fisiológicas

4.3.2.1 Pérdida de peso

En todas las variantes de *Stenocereus* se observó que la pérdida de peso osciló entre 25 y 30 % después de 10 días de almacenamiento. Durante los primeros seis días de la evaluación la pérdida de peso fue baja, con valor promedio de 5.63 %, debido a que la principal causa es la transpiración; no obstante, del séptimo día al final de tiempo de almacenamiento se observó un aumento considerable, en promedio de 14 %, lo cual se debe a que a partir de dicho día la proliferación de hongos fue mayor, lo que pudo causar hidrólisis de tejidos y con ello una mayor pérdida de peso. En general, los frutos de *S. pruinosus* presentaron mayor pérdida de peso que los de *S. stellatus*, lo cual fue estadísticamente diferente (Figura 8). En frutos de pitahaya (*Hylocereus* sp.) y pitahaya

amarilla (*Selenicereus*) almacenados durante 12 y 15 días a temperatura ambiente, respectivamente se han observado valores de pérdida de peso menores a lo encontrado en el presente estudio, mismos que oscilan de 3.0 a 7.8 % (Osuna-Enciso et al., 2011; Rodríguez-Rodríguez *et al.*, 2005). En otras cactáceas como las tunas (*Opuntia* sp.) se han reportado pérdidas de peso que van de 14 a 15 %; no obstante el tiempo de almacenamiento ha sido de 28 días (Ochoa y Guerrero, 2012). La pérdida de peso es una de las variables más importantes en la calidad de frutas y hortalizas en almacén, la cual está estrechamente relacionada con las condiciones de almacenamiento como temperatura y humedad relativa, sin embargo, se ha visto que también puede depender de la variedad o del cultivar (Corrales y Hernández, 2005).

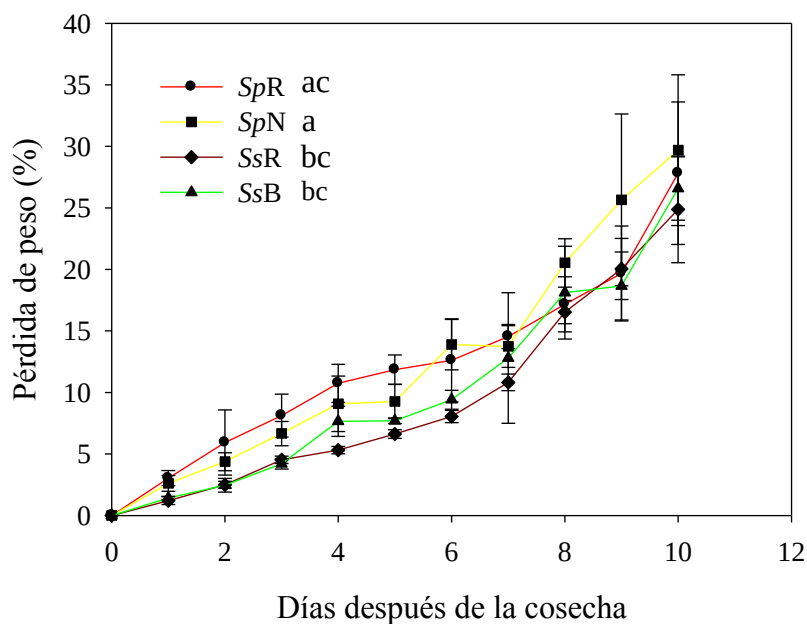


Figura 8. Pérdida de peso acumulado en frutos de pitaya *Stenocereus pruinosus* en sus variantes roja (SpR), naranja (SpN) y *Stenocereus stellatus* en sus variantes roja (SsR) y blanca (SsB) durante 10 días de almacenamiento a 24 °C y 90 % HR. Letras iguales indican diferencia no significativa (Tukey, 0.05).

3.2.2 Velocidad de respiración

El patrón de respiración de los frutos de pitaya siguió el comportamiento de los frutos no climatéricos, es decir, no presentaron un incremento en la producción de CO₂. Durante los primeros seis días de almacenamiento la producción de CO₂ se mantuvo constante, sin embargo, a partir del séptimo día se comenzó a observar un notable incremento, el cual se pudo deber a la presencia de hongos, ya que estos aceleran los procesos metabólicos, además de la propia respiración de los patógenos (Paliyath y Murr, 2008).

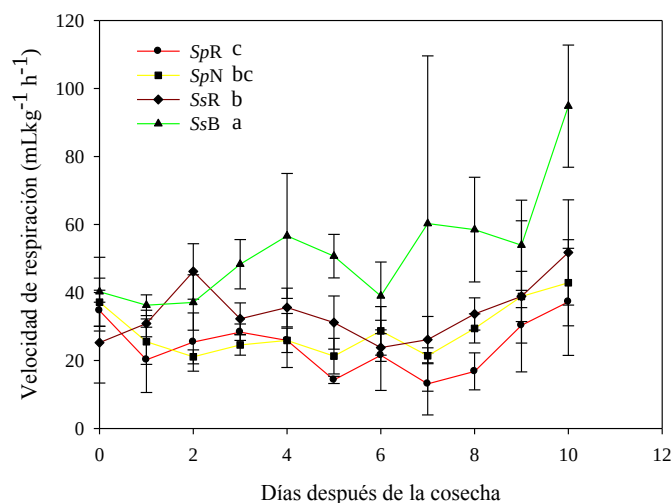


Figura 9. Velocidad de respiración de frutos de pitaya *Stenocereus pruinosus* en sus variantes roja (*SpR*), naranja (*SpN*) y *Stenocereus stellatus* en sus variantes roja (*SsR*) y blanca (*SsB*) durante 10 días de almacenamiento a 24 °C y 90 % HR. Letras iguales indican diferencia no significativa (Tukey, 0.05).

De las cuatro variantes evaluadas, la variante *SsB* fue la que presentó una tasa de respiración más elevada (40.2 a 90.8 mL·kg⁻¹·h⁻¹), lo cual fue estadísticamente diferente respecto a las demás (Figura 9), aunque los resultados obtenidos estuvieron por arriba de lo reportado por Armella *et al.* (2003) quienes encontraron valores entre 4 y 10

$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ en frutos de pitaya de mayo; no obstante fueron similares a lo observado de pitahaya (*Hylocereus* sp.) (Rodríguez-Rodríguez *et al.*, 2005; Osuna-Enciso *et al.*, 2011; Magaña *et al.*, 2004).

4.3.2.3 Metabolitos anaerobios: Etanol/acetaldehído

La producción de acetaldehído se mantuvo constante durante todo el tiempo de almacenamiento, las variantes con menor producción fueron *SpR* y *SpN*, en las cuales su contenido osciló entre 0.9 y 2.4 mmol mientras que en las variantes de *S. stellatus* se observaron valores entre 2.7 y 4.9 mmol, en donde la variante *SsB* presentó los mayores niveles de producción (Figura 10). Respecto a los contenidos de etanol, en las variantes de *S. pruinosa* no se observaron diferencias estadísticamente significativas (Figura 10), los valores durante todo el periodo de almacenamiento oscilaron de 4.4 a 17.3 mmol, los cuales estuvieron por debajo a lo encontrado en las variantes de *S. stellatus*, en donde se observaron contenidos entre 28.3 y 132.4 mmol, siendo la variante *SsB* en donde se identificó el mayor contenido de dicha variable.

El acetaldehído es un componente natural del aroma de los frutos, y junto con el etanol son precursores de diferentes compuestos aromáticos. El etanol es el metabolito más común en frutos expuestos a condiciones anaeróbicas, sin embargo se encuentra también en pequeñas cantidades aun en un ambiente de aerobiosis, y tiende a incrementarse cuando hay sobremaduración en los frutos o bien senescencia (Pesis, 2005). Los frutos con los que se trabajó no estuvieron expuestos a condiciones de anaerobiosis; sin embargo, dado su carácter de frutos no climatéricos, el proceso fisiológico al que están

encaminados es la senescencia, y esto, aunado a la presencia de hongos provocó un incremento sustancial en el contenido de etanol.

Yáñez-López *et al.* (2005) encontraron que los principales compuestos responsables del aroma en frutos de pitaya son aldehídos y alcoholes como el pentanal, hexanal, trans-2-hexenal y el pentanol, de los cuales la característica principal es que presentan aromas herbales. Asimismo, los autores identificaron estéres como el acetato de etilo y el butirato de etilo, que se caracterizan por tener aromas afrutados.

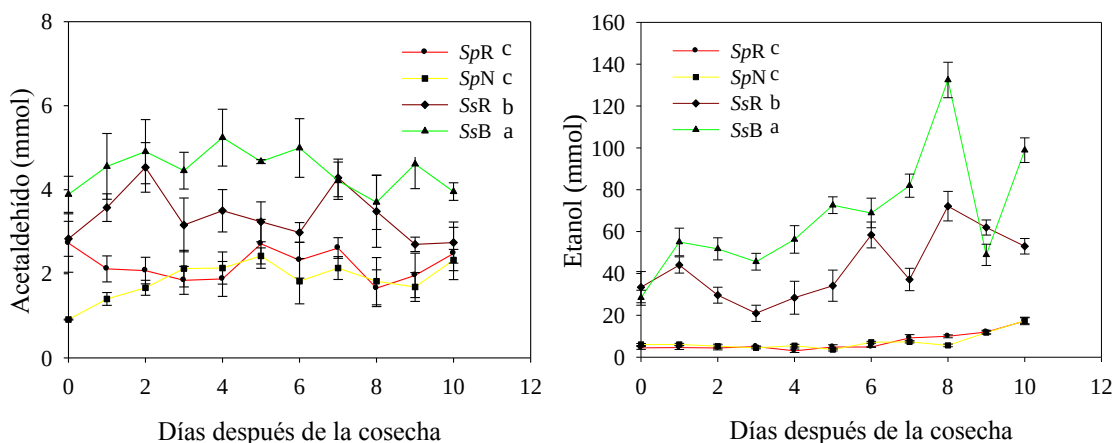


Figura 10. Producción de metabolitos anaerobios: Etanol/acetaldehído en frutos de pitaya *Stenocereus pruinosus* en sus variantes roja (SpR), naranja (SpN) y *Stenocereus stellatus* en sus variantes roja (SsR) y blanca (SsB) durante 10 días de almacenamiento a 24 °C y 90 % HR. Letras iguales indican diferencia estadística no significativa (Tukey, 0.05).

Al igual que en la velocidad de respiración y la pérdida de peso, el contenido de etanol en las muestras de pitaya muestra un comportamiento similar, en el cual hasta el sexto día de almacenamiento se observan valores constantes; sin embargo, a partir del séptimo día los contenidos se disparan y, como ya se dijo anteriormente, esto pudo ser causado

por la presencia de hongos, los cuales pudieron haber inducido un metabolismo fermentativo que provocó los incrementos en el contenido de etanol, lo cual se constata al observar el comportamiento de azúcares totales del fruto, los cuales dada la fermentación muestran tendencia a disminuir (Figura 15).

4.3.3 Características físicas

4.3.3.1 Grosor de cáscara

Se identificaron tres tejidos que dan soporte en la cáscara de los frutos de *Stenocereus stellatus*: el tejido epidérmico, constituido por dos capas de células, el clorénquima y el parénquima (Figura 12c), además de tres capas de cutina (Figura 12b) y una capa cerosa en la superficie (Figura 12a), la cual ayuda a disminuir las pérdidas de agua por exposición directa.

En lo que respecta a la disminución del grosor de cáscara, en promedio todas las variantes disminuyeron en un 55 % después de los diez días de almacenamiento. La variante que presentó el menor grosor de cáscara al inicio fue SsB, mientras que el mayor grosor lo tuvieron SpN y SpR. Sin embargo, no existieron diferencias estadísticas significativas entre variantes, después de los 10 días de monitoreo (Figura 11).

La cáscara de los frutos da resistencia contra daños durante su manejo postcosecha, sin embargo depende de las características morfológicas, físicas y bioquímicas, de las cuales, la estructura de la pared celular es la más importante pues se asocia con el ablandamiento de los frutos. Se ha visto que los cambios en la pared celular durante la maduración de frutos se asocian con cambios estructurales en la pectina, hemicelulosa y celulosa, que son los constituyentes más importantes de la pared celular (Seymor y

Gross, 1996). Las enzimas involucradas en la alteración de los compuestos de la pared celular son las hidrolasas, en frutos de *Opuntia ficus-indica* se ha observado que durante el almacenamiento la actividad de la poligalacturonasa, celulasa y β -galactosidasa se incrementaron al doble, lo cual provocó la disolución de la lámina media (Carrillo-López *et al.*, 2002). En los frutos de pitaya la disminución del grosor de cáscara se pudo deber a la transpiración, la cual provocó el fenómeno de deshidratación, mismo que se vio acentuado por la posible acción de las enzimas hidrolasas que debilitaron las paredes celulares de los tejidos antes mencionados, pudiendo provocar una compactación de los mismos al ya no tener el agua que les daba rigidez.

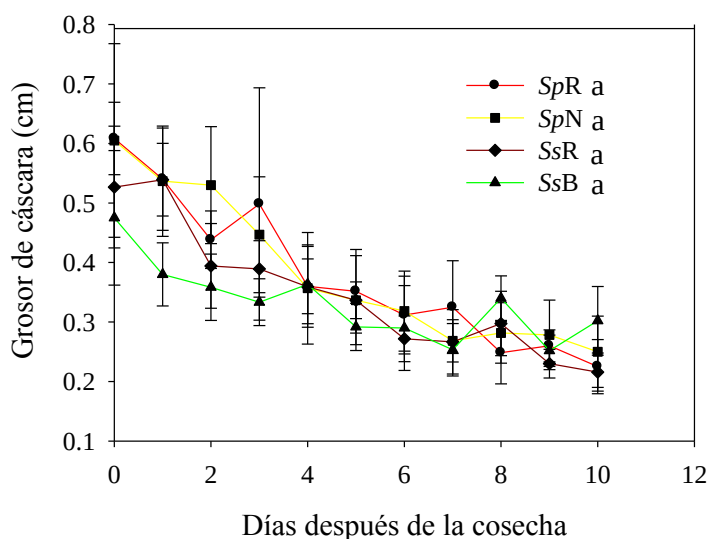


Figura 11. Disminución en el grosor de la epidermis de *Stenocereus pruinosus* en sus variantes roja (*SpR*), naranja (*SpN*) y *Stenocereus stellatus* en sus variantes roja (*SsR*) y blanca (*SsB*) durante 10 días de almacenamiento a 24 °C y 90 % HR. Letras iguales indican diferencia estadística no significativa (Tukey, 0.05).

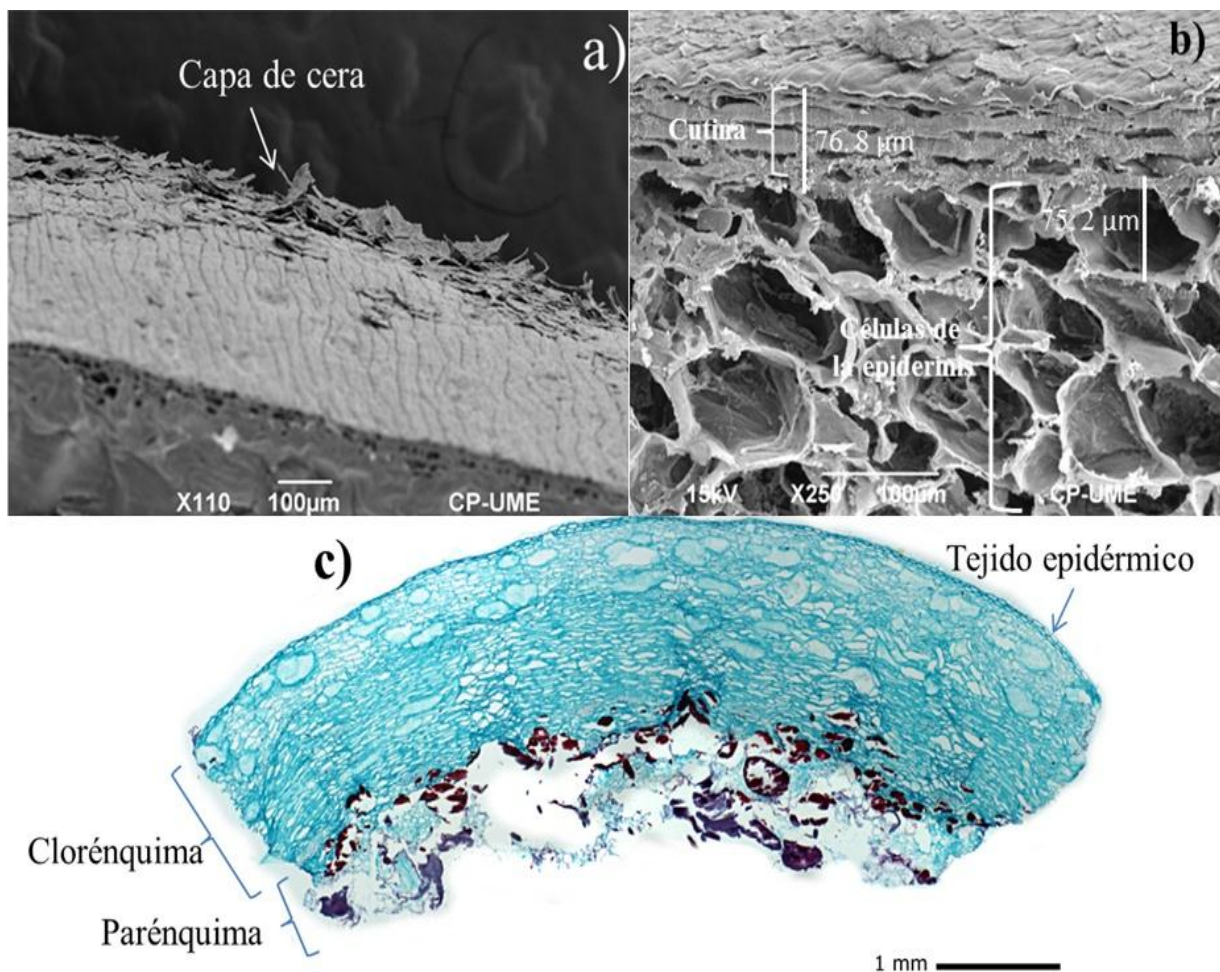


Figura 12. Microfotografías al microscopio electrónico de barrido mostrando la superficie con cera de la cáscara (a), un corte transversal en donde se observan las capas de cutina y el tejido epidérmico(b), y corte histológico de la cáscara de pitaya de agosto que muestra los tejidos principales (*Stenocereus stellatus*) (c).

4.3.3.2 Firmeza

La firmeza en cáscara de las variantes SsB y SsR presentó un comportamiento constante durante los primeros 5 días de almacenamiento, durante los cuales sólo disminuyó en promedio un 13 %. A partir del sexto día y hacia el final del almacenamiento fue cuando

se observó la mayor pérdida de firmeza, que en promedio correspondió a un 23 %. Las variantes *SpR* y *SpN* mostraron un comportamiento diferente, en el cual la firmeza descendió desde el primer día de almacenamiento; no obstante, en el día 6 se observó que los valores se aumentaron (Figura 13), lo cual ser causado por la desecación de la cáscara originada por la pérdida de agua durante la transpiración, y a la cicatrización de las heridas causadas por la fricción entre espinas. Dado el comportamiento que presentaron las variantes de *S. pruinosa* y *S. stellata*, se observaron diferencias estadísticas significativas entre especie, mas no entre variante. En lo que respecta a la firmeza en pulpa, se observaron tendencias a disminuir en todas las variantes; sin embargo, no se apreció una tendencia clara debido a la elevada variabilidad en los datos. Las variantes *SpR*, *SpN* y *SsR* presentaron comportamientos similares, sin diferencias estadísticas entre ellos, mientras que la variante *SsB* tuvo los valores más bajos (0.25 N) al final del almacenamiento, lo que fue estadísticamente diferente respecto a las demás (Figura 13).

La pérdida de firmeza se pudo deber a distintos factores, dentro de los cuales está la naturaleza de los frutos dado que se tratan materiales de no climatéricos, es decir, que van encaminados hacia la senescencia, por lo que los tejidos tienen a degradarse. A este respecto Kader *et al.* (2002) mencionan que el ablandamiento se debe a la disolución de la lámina media, aunque otro factor importante pudo ser la pérdida de agua por transpiración y por último la presencia de hongos. En pitahaya se ha encontrado una tendencia similar a *SpR* y *SpN* (Osuma-Enciso *et al.*, 2011), en tanto que en tuna se ha encontrado un claro comportamiento a disminuir durante el almacenamiento (Hernández-Pérez *et al.*, 2005), en forma similar a lo ocurrido en *SsR* y *SsB*.

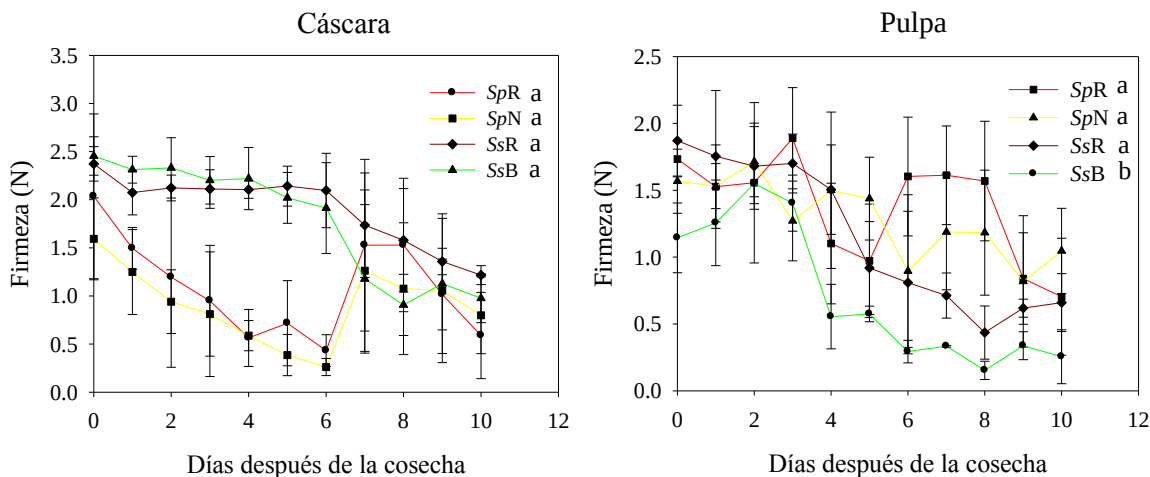


Figura 13. Pérdida de firmeza en cáscara y pulpa de *Stenocereus pruinosus* en sus variantes roja (*SpR*), naranja (*SpN*) y *Stenocereus stellatus* en sus variantes roja (*SsR*) y blanca (*SsB*) durante 10 días de almacenamiento a 24 °C y 90 % HR. Letras iguales indican diferencia estadística no significativa (Tukey, 0.05).

4.3.3.3 Color

El color es de los atributos de calidad más importantes en la comercialización de frutas y hortalizas. Los valores de luminosidad fueron más elevados en la pulpa (35-45 %) que en la cáscara. En ésta variable todas las variantes mostraron diferencias estadísticas significativas, en la cual la variante *SsB* tiene los valores más altos tanto en cáscara como en pulpa. El ángulo de tono de la cáscara de las variantes *SpN* y *SsB* mostró tendencia a disminuir, pues el color de *SpN* al inicio del almacenamiento fue verde y al final ligeramente naranja, mientras que el de *SsB*, que también era verde en un inicio, se volvió amarillo verdoso, lo cual pudo ser originado por la degradación de las clorofilas. En la variante *SsR* se observó que hacia el final del periodo de almacenamiento se

tuvieron los valores de hue más bajos ($\approx 30\%$), lo cual indica que los frutos se volvieron más rojos. En la variante *SpR* no se observaron cambios respecto a dicha variable.

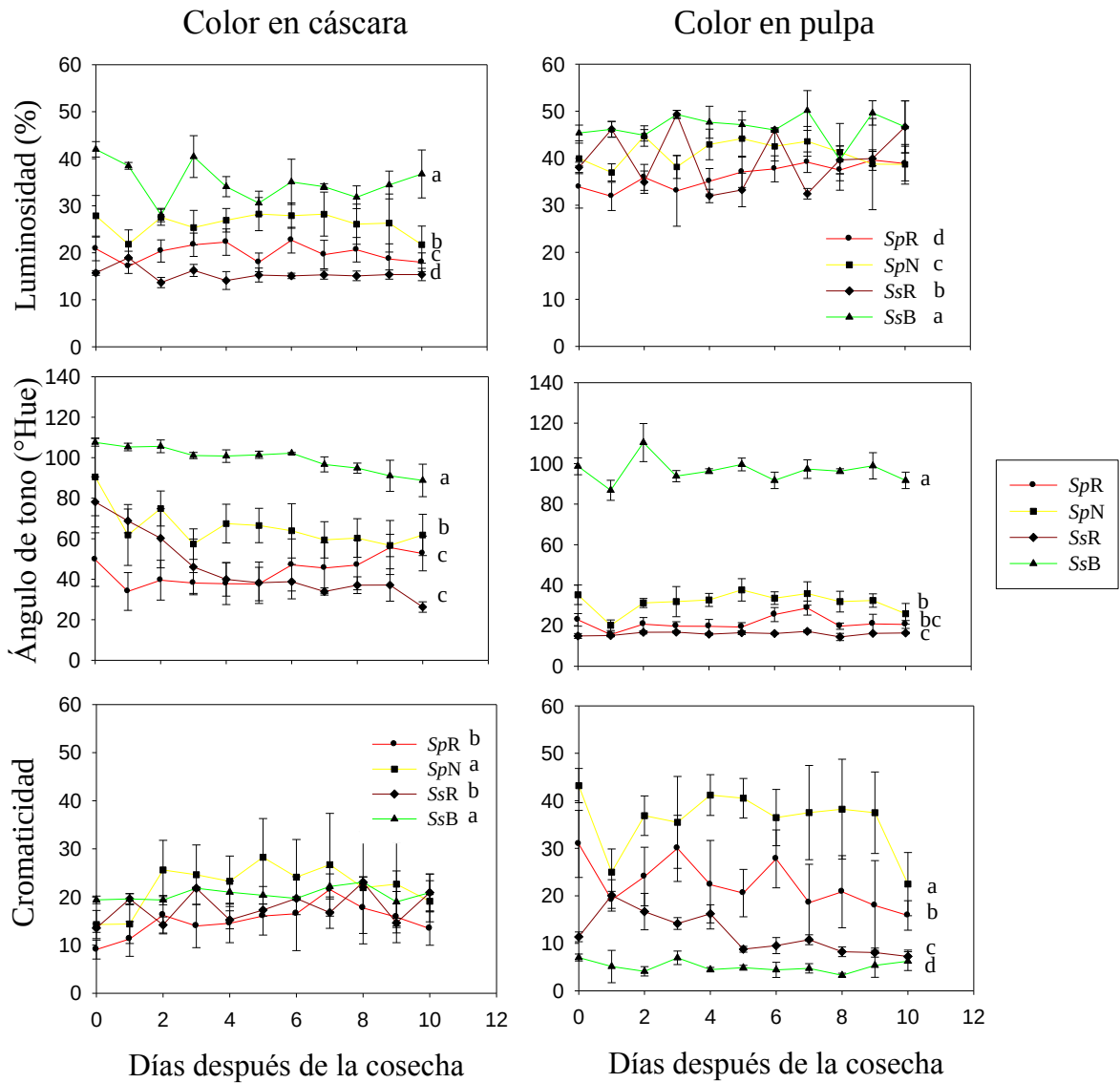


Figura 14. Comportamiento de los parámetros de color: Luminosidad, Hue y Croma en cáscara y pulpa de *Stenocereus pruinosus* en sus variantes roja (*SpR*), naranja (*SpN*) y *Stenocereus stellatus* en sus variantes roja (*SsR*) y blanca (*SsB*) durante 10 días de almacenamiento a 24 °C y 90 % HR. Letras iguales indican diferencia estadística no significativa (Tukey, 0.05).

Los frutos de *SpN*, y *SsR* dado su carácter no climatérico, en teoría ya no se deberían presentar cambios en el ángulo de tono (hue) de la cáscara después de la cosecha (Figura 14), sin embargo, se ha visto en frutos de tuna que la pigmentación de la última capa epidérmica es independiente de la pigmentación de la pulpa y de la cáscara, y se lleva a cabo después de que éstas se han coloreado (Felker *et al.*, 2008), es posible que algo similar ocurra en los frutos de pitaya y que este sea el motivo por el cual los valores de hue de las variantes *SpN* y *SsR* disminuyan.

Los valores del ángulo de tono en la pulpa fueron los que menos cambios tuvieron durante el tiempo de almacenamiento. Respecto al índice de saturación (croma), fue en la cáscara en donde se encontraron los valores más bajos en comparación con la pulpa, lo cual pudo deberse a que el color es más homogéneo en la pulpa que en la cáscara, no obstante, también presentó un comportamiento constante, en donde las variaciones son atribuibles a la variabilidad dentro de las muestras.

4.3.4 Características químicas

4.3.4.1 Sólidos solubles totales (SST), pH y acidez titulable

Los frutos clasificados como no climatéricos presentan pocos cambios durante su almacenamiento, dado que el corte se lleva a cabo cuando éstos ya se desarrollaron por completo (Reid, 2007). Los frutos de pitaya se clasifican como no climatéricos, por lo que se esperaba observar un comportamiento constante a través del periodo de almacenamiento en éstas variables como lo muestra la Figura 15. El contenido de

sólidos solubles totales osciló entre 9 y 11 °Brix, y entre variantes hubo diferencias estadísticas significativas sólo en relación a la variante *SpN*, en donde se observó un ligero aumento y posterior decremento en los SST. Sin embargo, esto se atribuye a la propia variabilidad de la muestra. Los resultados encontrados en esta variable son semejantes a los reportados previamente en las especies estudiadas (Rosales-Bustamante *et al.*, 2009; Campos-Rojas *et al.*, 2011); no obstante, se encuentran ligeramente inferiores a lo reportado en tuna (12.5 – 14 °Bx) en las variedades Naranjona, Blanca Cristalina y Esmeralda (Hernández-Pérez *et al.*, 2005) y pitaya amarilla (*Selenicereus megalanthus* (Scum. ex Vaupel), donde se reportaron valores hasta de 20 °Bx (Nerd y Mizrahi, 1999).

El pH de las variantes *SsB* y *SsR* de la especie *S. stellatus* estuvo en un intervalo de 4 a 4.5, sin cambios aparentes respecto al tiempo de almacenamiento, y entre dichas variantes no existieron diferencias estadísticas significativas (Figura 15); sin embargo, sí existió diferencia con relación a las variantes de *S. pruinosus*, las cuales presentaron valores entre 5 y 6.5. Los valores de pH de las variantes de *S. stellatus* son similares a lo reportado en pitahaya (Rodríguez-Rodríguez *et al.*, 2005; Esquivel *et al.*, 2007), mientras que lo encontrado en las variantes de *S. pruinosus* se asemejan más a lo reportado en tuna (Hernández-Pérez *et al.*, 2005).

En las variantes *SpR* y *SpN* no existieron diferencias significativas en el contenido de acidez titulable, en donde los valores oscilaron de 0.2 a 0.1 %; sin embargo, sí existieron diferencias respecto a las variantes *SsR* y *SsB*, en la cuales se encontraron contenidos entre 0.78-0.46 y 0.63-0.4 %, respectivamente. En éstas variantes se observó

que la acidez disminuyó aproximadamente en un 26 % hacia el final del tiempo de almacenamiento, lo cual se asemeja a lo reportado en tuna (Hernández-Pérez *et al.*, 2005) y en pitahaya en estado de madurez completa (Osuna-Enciso *et al.*, 2011), no obstante en el caso de ésta última, la acidez disminuyó en un 66 %. La acidez titulable mide el contenido total de los ácidos orgánicos que le confieren el sabor a las frutas y hortalizas. En frutos de pitahaya (*Hylocereus* sp.) el ácido predominante es el ácido málico; sin embargo, también están presentes ácidos como el ascórbico, dehidroascórbico, cítrico, láctico y oxálico (Esquivel *et al.*, 2007). En pitaya amarilla (*Selenicereus megalanthus*) los ácidos predominantes son el cítrico y el ascórbico (Rodríguez-Rodríguez *et al.*, 2005). Los resultados de acidez titulable demuestran que los frutos de *S. stellatus* son más ácidos que los de *S. pruinosus*, información previamente informada por otros investigadores.

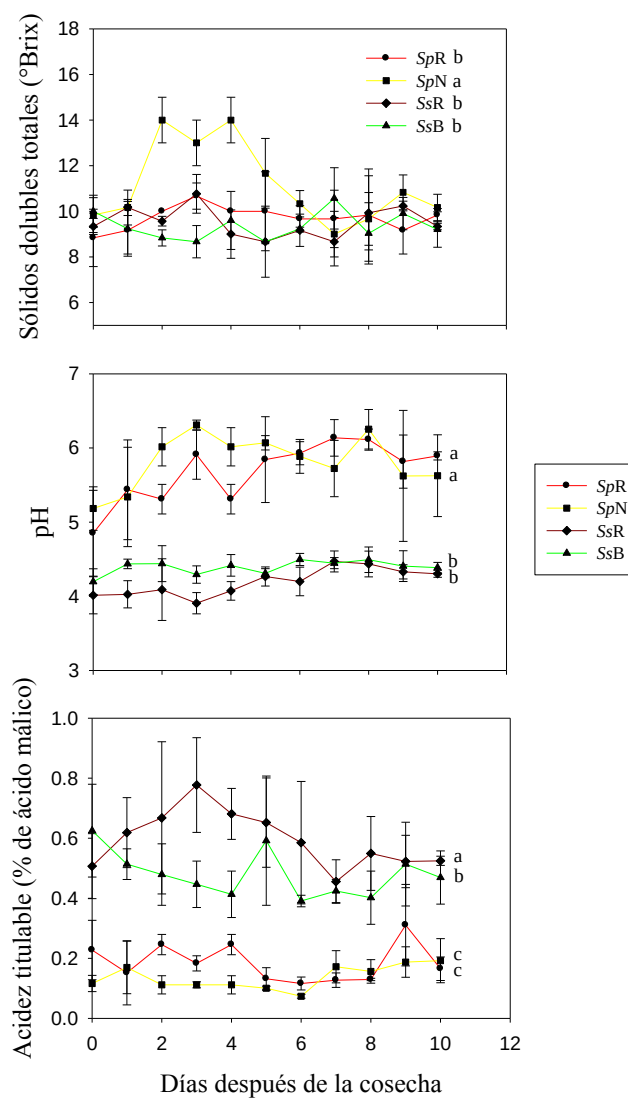


Figura 15. Comportamiento de SST, pH y acidez titulable de *Stenocereus pruinosus* en sus variantes roja (SpR), naranja (SpN) y *Stenocereus stellatus* en sus variantes roja (SsR) y blanca (SsB) durante 10 días de almacenamiento a 24 °C y 90 % HR. Letras iguales indican no diferencia significativa (Tukey, 0.05).

4.3.4.2 Azúcares totales

El contenido de azúcares totales no fue estadísticamente significativo entre variantes; sin embargo, en el día cero de almacenamiento se observaron los valores más altos en

las variantes *SpN* y *SsB* (Figura 16), las cuales fueron de 8.9 y 9.92 g/100 g de muestra fresca para cada una. Los azúcares totales disminuyeron en un 33, 40, 34 y 52 % para las variantes *SpR*, *SpN*, *SsR* y *SsB*, respectivamente, a medida que avanzó el tiempo de almacenamiento, lo cual pudo deberse a que durante la respiración tanto azúcares como ácidos orgánicos, son utilizados como sustratos (Taiz y Zeiger, 2002).. El contenido de azúcares totales presentes en frutos de pitaya fue similar a lo reportado por Yáñez-López *et al.* (2005). Por su parte Esquivel *et al.* (2007) encontraron que en frutos de pitahaya el azúcar predominante es la glucosa, seguida de la fructosa en menor cantidad.

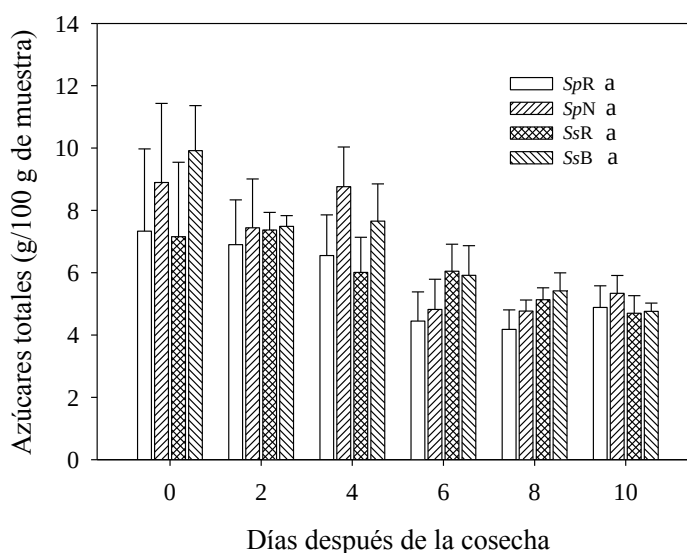


Figura 16. Comportamiento del contenido de azúcares totales de *Stenocereus pruinosus* en sus variantes roja (*SpR*), naranja (*SpN*) y *Stenocereus stellatus* en sus variantes roja (*SsR*) y blanca (*SsB*) durante 10 días de almacenamiento a 24 °C y 90 % HR. Letras iguales indican no diferencia estadística significativa (Tukey, 0.05).

4.3.4.3 Fenoles solubles totales (FST), betalaínas totales y actividad antioxidante

El contenido de FST y betalaínas totales se mantuvieron constantes durante el tiempo de almacenamiento y fue estadísticamente diferente en todas las variantes (Figura 17).

Los compuestos fenólicos están presentes en los tejidos vegetales independientemente del estado de fisiológico en el que se encuentren. En frutos de *Opuntia stricta* se ha observado que a medida que los frutos se desarrollan, aumenta la concentración de compuestos fenólicos con un comportamiento sigmoideal (Castellar *et al.*, 2012); sin embargo, también se ha visto que la concentración de fenoles disminuye durante el periodo de almacenamiento (Herrera-Hernández *et al.*, 2011), lo cual no se apreció en el presente estudio. Los mayores contenidos de FST los tuvo la variante SsR (92-65.7 mg de EAG/100 g de muestra fresca), seguido de la variante SpR, SpN y SsB con 61.5-50.4, 46.4-30.8 y 35.1-31.5 mg de EAG/100 g de muestra fresca, respectivamente, las fluctuaciones en los contenidos son atribuibles a la variabilidad de las muestras, no tanto a los cambios durante el almacenamiento. Contenidos similares se han reportado en frutos de *O. megacantha* y *O. ficus-indica* (Coria-Cayupán *et al.*, 2011) e *Hylocereus* sp. (Wu *et al.*, 2006); no obstante en otras especies de tuna como *O. stricta*, *O. undulata* y otras variedades de *O. ficus-indica* se han reportado concentraciones de fenólicos solubles totales superiores, los cuales oscilan de 164.6 a 218.8 mg de EAG/ 100 g de muestra fresca (Fernández-López *et al.*, 2010; Castellar *et al.*, 2012). Los frutos de garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*) y xoconostle cuaresmeño (*Opuntia matudae*) son las especies de las cactáceas en donde se han reportado los contenido más elevados de fenoles solubles totales, los cuales van de 740-1002 (Herrera-Hernández *et al.*, 2011) y 840-860 (Guzmán-Maldonado *et al.*, 2010) mg de EGA/ 100 de muestra fresca. A

pesar de que en las muestras se encontró una cantidad importante de FST, éstos podrían estar sobre estimados, debido a que el método colorimétrico que se empleó para cuantificarlos no es específico para fenoles, otros compuestos como los azúcares y la vitamina C pueden también reducir al reactivo Folin-Ciocalteu (Georgé *et al.*, 2005), además dada la estructura de las betalaínas, igualmente podrían contribuir al contenido total de fenoles (Wu *et al.*, 2006).

El color presente en la pulpa de la pitaya se debe a la presencia de betacianinas y betaxantinas, las cuales brindan coloraciones rojo-púrpura y amarilla, respectivamente. La suma del contenido de dichos grupos de compuestos da como resultado el contenido total de betalaínas. En las variantes *SpR* y *SsR*, a pesar de que la pulpa presentó coloraciones rojo-magenta, el contenido de betaxantinas fue superior al de las betacianinas en una relación de 1.7:1. En *SpN* fue donde se encontró la mayor concentración de betaxantinas, las cuales tuvieron una relación de 9:1 respecto al contenido de betacianinas. En lo que se refiere al contenido total de betalaínas, fue sólo en las variantes de *SpR* y *SsR* en donde no se encontraron diferencias estadísticas significativas, sus concentraciones oscilaron de 62 a 50 mg/100 g de muestra fresca, en tanto que la variante *SpN* tuvo en promedio 42.46 mg/100 g de muestra fresca. En la *SsB* no se detectó coloración, por lo que el contenido de betalaínas fue de los más bajos. La principal fuente de betalaínas es el betabel (*Beta vulgaris*), y los resultados obtenidos en pitaya contrastan mucho con lo reportado en dicha especie, en la cual se han reportado concentraciones hasta de 39.760 mg/g de muestra fresca (Georgiev, *et al.*, 2010), no obstante, son superiores a lo reportado en otras cactáceas como tuna o garmbullo (Yahia y Mondragón-Jacobo, 2011; Guzmán-Maldonado *et al.*, 2010).

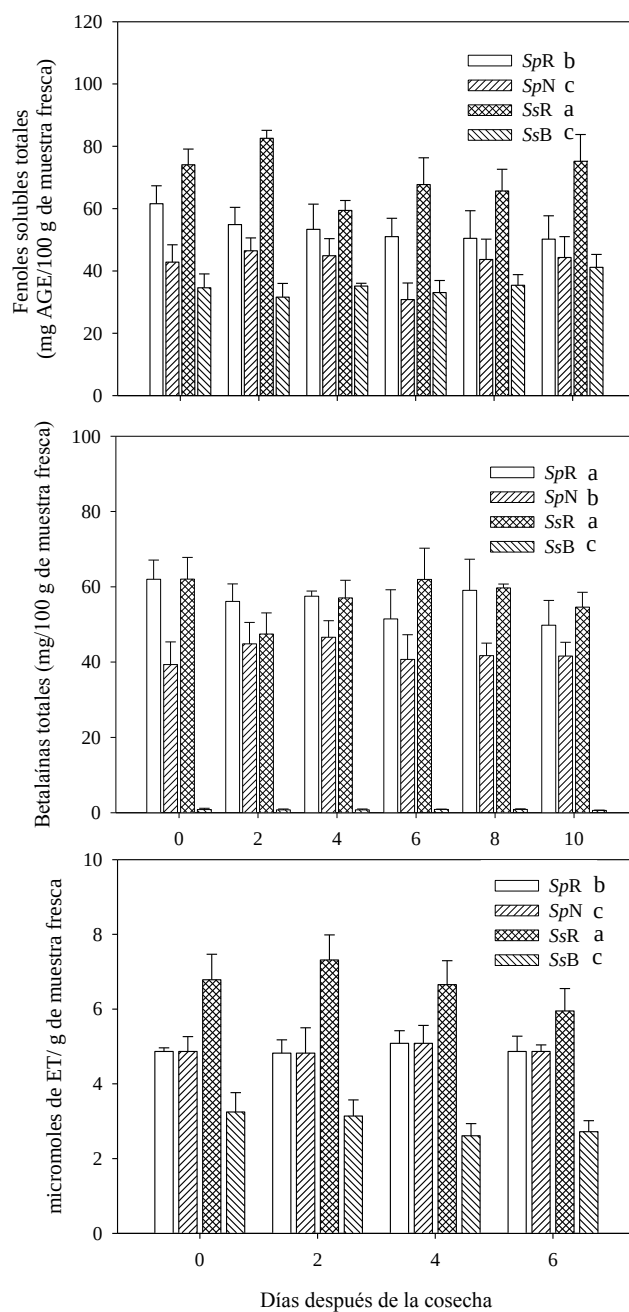


Figura 17. Contenido de betalainas, fenoles solubles totales (FST) y actividad antioxidante de *Stenocereus pruinosus* en sus variantes roja (*SpR*), naranja (*SpN*) y *Stenocereus stellatus* en sus variantes roja (*SsR*) y blanca (*SsB*) durante 10 días de almacenamiento a 24 °C y 90 % HR. Letras iguales indican diferencia estadística no significativa (Tukey, 0.05).

Se ha reportado que las betalaínas y compuestos fenólicos tienen propiedades benéficas a la salud, como son antiinflamatorias (Vidal *et al.*, 2014), anticlastogénicas (Madrilgal-Santillán, *et al.*, 2013), anticancerígenas (Wu *et al.*, 2006) y diversos estudios han demostrado que estabilizan fácilmente radicales libres (Cai *et al.*, 2003; Gandía-Herrero *et al.*, 2013; Stintzing *et al.*, 2005), además de que para el caso de compuestos fenólicos también poseen propiedades antialérgica, antimicrobiana, antioxidante, antitrombótica y cardioprotectiva (Balasundram *et al.*, 2006). Dado que las variantes de *Stenocereus* sp. tienen importantes contenidos de los fitoquímicos mencionados anteriormente se evaluó la actividad antioxidante de los extractos metanólicos de su pulpa únicamente hasta el sexto día de almacenamiento, debido a partir de ese momento se detectó visualmente la presencia de hongos en varios de los frutos y se consideró ociosa la evaluación en frutos en proceso de fermentación. El contenido más elevado de antioxidantes se observó en la muestra SsR, con un valor promedio de 6.7, seguida de SpR con 4.9 μmoles de TE/g de muestra fresca. Entre SpN y SsB no existieron diferencias estadísticas, el contenido promedio de la primera fue de 3.5 y el de la segunda 2.9 μmoles de TE/g de muestra fresca. Los mayores contenidos de fenoles solubles totales y betalaínas se observaron en la variante SsR, lo cual explica su mayor actividad antioxidante respecto al resto de las variantes. La variante SsB no presentó betalaínas, y por tal razón la actividad antioxidante en ésta variante es inferior a las demás; sin embargo en SpN la presencia de betalaínas no ayudó en que la actividad antioxidante de dicha variante fuera estadísticamente mayor a la de SsB, lo que pudo deberse a que la actividad biológica de los compuestos fenólicos está determinada en gran parte por la composición individual de cada uno de ellos (Cha *et al.*, 2013), además de que también depende del sinergismo

que exista con otros compuestos diferentes presentes en el extracto (Ramful *et al.*, 2011), en este caso, las betalaínas

4.4. CONCLUSIONES

En la caracterización inicial de los frutos, las diferencias existentes entre las variantes de las especies *Stenocereus pruinosus* y *Stenocereus stellatus* radicarón en el peso, el tamaño (diámetro polar y ecuatorial), forma y color de los frutos. En la caracterización del comportamiento postcosecha durante diez días de almacenamiento a 24 °C y 90 % de HR, todas las variables evaluadas, a excepción de la firmeza en cáscara, mostraron un comportamiento parecido en las dos especies de pitaya. Las variables de calidad como son SST, acidez titulable, pH, color, y el contenido de fitoquímicos y actividad antioxidante, se mantuvieron constantes a través del periodo de almacenamiento. Las variables en donde ocurrieron los mayores cambios fueron en la velocidad de respiración, contenido de etanol, pérdida de peso, grosor de cáscara, firmeza y azúcares totales, que para el caso de las primeras dos variables los valores aumentan, mientras que para el resto disminuyen. Este comportamiento se aceleró a partir de los días 5 y 6, por lo que se puede establecer que el tiempo máximo de almacenamiento a 24 °C y 90 % de HR fue de 5 días. Los cambios en las variables antes mencionadas se debieron al propio metabolismo de los frutos, puesto que van encaminados hacia la senescencia, y ocurrió proliferación de hongos, lo cual aceleró el deterioro de los mismos. Por lo anterior, las siguientes investigaciones deben enfocarse en reducir la pérdida de peso, tratar de conservar el grosor de la epidermis y la firmeza, y sobre todo, evitar la proliferación de hongos

4.5. LITERATURA CITADA

Armella, M. A., L. Yañez-López, S. J. Soriano and R. G. Ramírez. 2003. Phenology, postharvest, physiology and marketing of pitaya (*Stenocereus griseus*.) as a sustainable resource. *Acta Horticulturae* 598:251-254

Balasundram, N., Sundram, K. and Samman, S. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*. 99:191-2006.

Cai, Y., M. Sun and H. Corke. 2003. Antioxidant activity of betalains from plants of the Amaranthaceae. *J. Agric. Food Chem.* 51: 2288-2294.

Carrillo-López, A., Cruz-Hernández, A., Cáramez-Trejo, A., Guevara-Lara, F. and Paredez-López, O. 2002. Hydrolitic activity and ultrastructural changes en fruit skins from two prickly pear (*Opuntia* sp.) varieties during storage. *J. Agric. Food Chem.* 50: 1681-1685.

Castellanos-Santiago E. and Yahia, E. M. 2008. Identification and quantification of betalains from the fruits of 10 mexican prickly pear cultivars by high-performance liquid chromatography and electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56: 5758-5764.

Castellar, M. R., Solano, F. and Obón, J. M. 2012. Betacyanin and other antioxidants production during growth of *Opuntia stricta* (Haw.) fruits. *Plant Foods Hum. Nutr.* 67: 337-343.

Cha, M. N., Jun, H. I., Lee, W. J., Kim, M. J., Kim, M. K. and Kim, Y. S. 2013. Chemical composition and antioxidant activity of Korean cactus (*Opuntia humifusa*) fruit. *Food Sci. Biotechnol.* 22(2): 593-529.

Coria-Cayupán, Y., Ochoa, M. J. and Nazareno, M. A. 2011. Health-promoting substances and antioxidant properties of *Opuntia* sp. Fruits. Changes in bioactive-compound contents during ripening process. Food Chemistry. 126: 514-519.

Davis P L, W G Chase (1969) Determination of alcohol in citrus juice by gas chromatographic analysis of head space. HortScience 4:117-119.

Esquivel, P., Stintzing, F.C. and Carle, R. 2007. Comparison of morphological and chemical fruits traits from pitaya genotypes (*Hylocereus* sp.) grown in Costa Rica. Journal of Applied Botany and Food Quality. 81 (1): 7-14.

Felker, P., Stintzing, F. C., Müssig, E., Leitenberger, M., Reinold, C., Vogt, T. and Bunch, R. 2008. Colour inheritance in cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruits. Annals of applied biology. 152 (3): 307-318.

Fernández-López, J. A., Almela, L., Obón, J. M. and Castellar, R. 2010. Determination of antioxidant constituents in cactus pear fruits. Plant Foods Hum. Nutr. 65:253-259.

Gandía-Herrero, F., Cabanes, J., Escribano, J., García-Carmona, F. and Jiménez-Atiénzar, M. 2013. Encapsulation of the most potent antioxidant betalains in edible matrixes as powders of different colors. J. Agric. Food Chem. 61: 4294-4302.

Gandía-Herrero, F., Jiménez-Atiénzar, M., Cabanes, J., García-Carmona, F. and Escribano, J. 2010. Stabilization of the bioactive pigment of *Opuntia* fruits through maltodextrin encapsulation. J. Agric. Food Chem. 58: 10646-10652.

García-Suárez, F., Carreto-Montoya, L., Cárdenas-Navarro, R., Díaz-Pérez, J. C. and López-Gómez, R. 2007. Pitaya (*Stenocereus stellatus*) fruit growth is associated to wet season in Mexican dry tropic. ΦYTON. 76: 19-26.

Georgé, S., Brat, P., Alter, P., Amiot, M.J. 2005. Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. J Agric Food Chem 53:1370–3.

Georgiev, G. V., Weber, J., Kneschke, E. M., Denev, P. N., Bley, T. and Pavlov, A. I. (2010) Antioxidant activity and phenolic content of betalain extracts from intact plants and hairy root cultures of the red beetroot *Betavulgaris* cv. Detroit dark red. *Plant Foods Hum Nutr* 65:105–111

Guzmán-Maldonado, S. H., G. Herrera-Hernández., D. Hernández-López, R. Reynoso-Camacho, A. Guzmán-Tovar, F. vaillant, P. Brat. 2010. Physicochemical, nutritional and functional characteristics of two underutilised fruit cactus species (*Myrtillocactus*) produced in central Mexico. *Food chemistry*. 121: 381-386.

Hernández-Pérez, T., Carrillo-López, A., Guevara-Lara, F., Cruz-Hernández, A. and Paredes-López, O. 2005. Biochemical and nutritional characterization of three prickly pear species with different ripening behavior. *Plants Food for Human Nutrition*. 60:195-200.

Herrera-Hernández, M.G., Guevara-Lara, F., Reynoso-Camacho, R. and Guzmán-Maldonado, S. H. 2011. Effects of maturity stage and storage on cactus Berry (*Myrtillocactus geometrizans*) phenolics, vitamin C, betalains and their antioxidant properties. *Food Chemistry*. 129: 1744-1750.

Kader A A, N F Sommer, M L Arpaia (2002) Postharvest Handling Systems, Tropical Fruits In: Postharvest Technology of Horticultural Crops. A A Kader (Ed). University of California: Division of Agricultural and Natural Resources, USA. pp: 385-398.

Magaña, W., Balbín, M. I., Corrales, J., Rodríguez, A., Saucedo, C., Cañizares, E. y Sauri, E. 2004. Efecto de la frigoconservación en el comportamiento fisiológico de frutas de pitahaya (*Hylocereus undatus* Haworth). *Cultivos tropicales*. 25(4): 33-39.

Mendoza-Wilson, A. M. y R. Báez-Sañudo. 2000. Medición de la tasa respiratoria por sistema cerrado en melón cantaloupe. *Hort. Mex*. 8(2):158-163.

Nobel, P. 2002. Cacti biology and uses. University of California press. Los Angeles, California. 290 p.

Osuna-Enciso, T., Ibarra-Zazueta, M. E., Muy-Rangel, M. D., Valdez-Torres, J. B., Villarreal-Romero, M. y Hernández-Verdugo, S. 2011. Calidad postcosecha de frutos de pitahaya (*Hylocereus undatus* Haw.) cosechados en tres estados de madurez. Rev. Fitotec. Mex. 34(1):63-72.

Paliyath, G. and Murr, D. P. 2008. Biochemistry of fruits. In: Postharvest Technology of fruits, vegetables and flowers. Paliyath, G., Murr, D. P., Handa, A. K. and Lurie, S. (Ed). Wiley-Blackwell, USA. pp: 19-50.

Parra, F., Blancas, J. J., and Casas, A. 2012. Landscape management and domestication of *Stenocereus pruinosus* (Cactaceae) in Tehuacán Valley: human guided selection and gene flow. J. Ethnobiol Ethnomed 8:32.

Pesis, E. 2005. The role of the anaerobic metabolites, acetaldehyde and ethanol, in fruit ripening, enhancement of fruit quality and fruit deterioration. Postharvest Biology and Technology. 37: 1-19.

Ramful, D., Aumjaud, B., Neergheen, V. S., Soobrattee, M. A., Googoolye, K., Aruoma, O. I. and Bahorun, T. 2011. Polyphenolic content and antioxidant activity of *Eugenia pollicina* leaf extract *in vitro* and model emulsion systems. Food Research International. 44: 1190-1196.

Reid, M. S. 2007. Maduración e índices de madurez. En: Tecnología postcosecha de cultivos hortofrutícolas. Kader, A. A. (ed). University of California. California, USA. pp: 63-71.

Rodríguez-Rodríguez, D. A., Patiño-Gutiérrez, M. d. P., Miranda-Lasprilla, D, Fisher, G. y Galvis-Vanegas, J. A. 2005. Efecto de dos índices de madurez y dos temperaturas de almacenamiento sobre el comportamiento en poscosecha de la pitahaya amarilla (*Selenicereus melaganthus* Haw.). Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín. 58(2): 2837-2857.

Rosales-Bustamante, E. P., Luna-Morales, C. del C., Cruz-León, A. 2009. Clasificación y selección tradicional de pitaya (*Stenocereus pruinosus* (Otto) Buxb.) en Tianguistengo,

Oaxaca y Variación morfológica de cultivares. Revista Chapingo Serie Horticultura. 15(1): 75-82.

SAGARPA. 2012. Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera. Producción anual de pitaya. Disponible en <http://www.siap.gob.mx>. 19 de diciembre de 2013

Sant'Anna, V., Gurak, P. D., Ferreira-Marczak, L. D. and Tessaro, I. C. 2013. Tracking bioactive compounds with colour changes in foods- A review. Dyes and Pigments. 98:601-608.

Seymour, G. B.; Gross, K. C. Cell wall disassembly and fruit softening. PostharVest News Inform. 1996, 7, 45N-52N.

Singleton, V, L., and Rossi, J. J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture. 16: 144–158.

Stintzing, F. C, Herbach, K. M., Mosshammer, M. R., Carle, R., Yi, W., Sellappan, S., Akoh, C. C., Bunch, R. and Felker, P. 2005. Color, betalain, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia* spp.) clones. J. Agric. Food Chem. 53:442-451.

Stintzing, F. C. and Carle, R. 2004. Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and human nutrition. Trends in Food Science & Technology. 15: 19-38.

Taiz, L. and Zeiger, E. 2002. Respiration and lipid metabolism, *In: Plant physiology*, Third Edition. Ed. Sinauer Associates, Inc., Publishers, pp 223-258. USA.

Vidal, P. J., López-Nicolás, J. M., Gandía-Herrero, F. and García-Carmona, F. 2014. Inactivation of lipoxygenase and cyclooxygenase by natural betalains and semi-synthetic analogues. Food chemistry. 154: 246-254.

Wu L. C., Hsu H. W., Chen Y.C., Chiu C. C., Lin Y. I., Ho J. A. 2006. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. Food chemistry. 95: 319-327.

Yahia E. M., Mondragon-Jacobo C. 2011. Nutritional components and anti-oxidant capacity of ten cultivars and lines of cactus pear fruit (*Opuntia* spp.). Food Research International 44: 2311-2318.

Yáñez-López, L., Domínguez, J., Fajardo, M. C., Malpica, F., Soriano, J., Armella, M. A., Díaz-de-León, F. and Pelayo, C. 2005. Quality attributes of different types of cactus pitaya fruits (*Stenocereus griseus*). Acta Hort. 682.

V. CAPITULO II. CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL FRUTO DE DOS ESPECIES DE PITAYA (*Stenocereus pruinosus* Y *Stenocereus stellatus*) ENDÉMICAS DE MÉXICO

García-Cruz, L., Valle-Guadarrama, S., Salinas-Moreno, Y., Ybarra-Moncada, Ma. C.,
Luna-Morales, C. C.

RESUMEN

Los frutos de pitaya del género *Stenocereus* presentan una cantidad considerable de betalainas y compuestos fenólicos; sin embargo, poco se conoce sobre la identidad de cada grupo de fitoquímicos, por lo que en el presente estudio se trabajó con dos especies de pitaya: *S. pruinosus* en sus variantes roja (SpR) y naranja (SpN) y *S. stellatus* en sus variantes roja (SsR) y blanca (SsB) con el objetivo de caracterizar por HPLC-DAD-MS el contenido de betalainas y compuestos fenólicos presentes en la pulpa de los frutos, además de determinar su capacidad antioxidante por medio del ensayo ABTS*. El perfil cromatográfico de betalainas en las variantes SpR, SpN y SsR fue similar, se identificaron 10 de las 13 betalainas encontradas en los extractos, de las cuales 3 correspondieron a betaxantinas. Las betalainas más abundantes en las tres muestras fueron isoindicaxantina, gomfrenina I, filocactina y sus respectivos isómeros. En las tres variantes el contenido de betaxantinas fue superior al de betacianinas, oscilando de 17706.72 ± 1128.12 a 22053.46 ± 329.09 $\mu\text{g/g}$ muestra seca. Los grupos fenólicos identificados correspondieron a ácidos fenólicos, flavonoles y flavanonas, con la mayor concentración hallada en SsB con 140.597 ± 9.059 , seguida de SsR, SpR y SpN con 121.86 ± 8.11 , 75.58 ± 1.61 y 53.75 ± 2.95 $\mu\text{g/g}$ de muestra seca, respectivamente, no obstante, en SpR se encontró una diversidad más amplia. La actividad antioxidante estuvo en el intervalo de 9.21 ± 0.84 a 2.41 ± 0.36 $\mu\text{moles/g}$ de muestra fresca. Dada la composición fitoquímica que presentan los frutos, se les puede considerar como una buena fuente de compuestos antioxidantes.

Palabras clave: Ácidos fenólicos, Actividad antioxidante, Betalainas, Flavonoles, Flavanonas, *Stenocereus pruinosus*, *Stenocereus stellatus*.

ABSTRACT

The fruits of pitaya of the genus *Stenocereus* exhibit a considerable betalains and phenolic compounds content; however, little is known about the identity of each group of phytochemicals, which in this study worked with two species of pitaya: *S. pruinosus* in their red variants (SpR) and orange (SpO) and *S. stellatus* in their red variants (SsR) and white (SsW) in order to be characterized by HPLC-DAD-MS betalains and phenolic compounds present in the fruit pulp, and determination of their antioxidant capacity by testing ABTS*. The chromatographic profile of betalains in SpR, SpO and SsR variants was similar, was identified 10 of the 13 betalains found in the extracts, 3 of which were betaxantinas. The most abundant betalains in the three samples were isoindicaxanthin, gomphrenin I, phyllocacthin and their respective isomers. In all variants the betaxantinas content was higher than betacyanins, it oscillating from 17706.72 ± 1128 to 22053.46 ± 329.09 $\mu\text{g/g}$ dry sample. The phenolic groups correspond to phenolic acids, flavonols and flavanones, the highest concentration was found in the SsW with 140.597 ± 9.059 , followed by SsR, SpR and SpN with 121.86 ± 8.11 , 75.58 ± 1.61 and 53.75 ± 2.95 $\mu\text{g/g}$ dry sample, respectively, however, in SpR was found more diversity of phenolic compounds. The antioxidant activity was in the range of 9.21 ± 0.84 to 2.41 ± 0.36 $\mu\text{moles/g}$ fresh sample. In view of the phytochemical composition of the fruits, it may be regarded as a good source of antioxidant compounds.

Keywords: phenolic acid, antioxidant activity, betalains, flavonols, flavanones, *Stenocereus pruinosus*, *Stenocereus stellatus*

5.1 INTRODUCCIÓN

El género *Stenocereus* se caracteriza por albergar una parte del grupo de los cactus columnares, en el cual, tres son las especies más cultivadas debido al valor económico de sus frutos: *S. pruinosus*, *S. stellatus*, y *S. queretaroensis*, mismas que son endémicas de México (Luna-Morales *et al.*, 2001; Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991). Estas especies producen frutos llamados pitayas, los cuales son bayas poliespermáticas, de forma esférica u ovoide, que presentan areolas espinosas y caducas, semillas pequeñas y comestibles, su pulpa es jugosa y de distintos colores, desde blanco, amarillo, rosa, anaranjado, hasta el rojo o púrpura (Casas *et al.*, 1999). La especie *S. pruinosus*, también conocida como pitaya de mayo debido a la época de cosecha, tiene frutos de forma ovoide, de baja acidez y sólidos solubles totales que varían de 9-10 °Brix (García-Cruz *et al.*, 2013); los frutos de *S. stellatus*, llamados también pitaya de agosto o xoconochtli (Casas *et al.*, 2006), son de forma más esférica, ligeramente más ácidos y de similar contenido de sólidos solubles totales (Beltrán-Orozco *et al.*, 2009), las características de la especie *S. queretaroensis* son similares a las anteriormente descritas, no obstante, la diferencia principal radica en la dehiscencia de los frutos, lo cual los hace más perecederos (Pimienta-Barrios *et al.*, 2004). El color de pulpa de los frutos de pitaya, al igual que en otras cactáceas como las de los géneros *Opuntia* e *Hylocereus*, se debe a la presencia de betalaínas (Ochoa-Velazco y Guerrero-Beltrán; 2013), que son pigmentos hidrosolubles con nitrógeno en su estructura, de las cuales se han descrito alrededor de 55. Estos compuestos se dividen en dos grupos; betacianinas y betaxantinas, que imparten coloraciones rojo-

purpura y amarillo-naranja, respectivamente (Stintzing y Carle, 2007). Las betalaínas poseen diversas actividades biológicas, entre las que destacan sus propiedades anti-inflamatorias (Vidal *et al.*, 2014), antioxidantes (Gandía-Herrero *et al.*, 2013), y anticancerígenas (Wu *et al.*, 2006; Zou *et al.*, 2005). Otro grupo importante de fitoquímicos presentes en la pulpa de pitaya son los compuestos fenólicos (García-Cruz *et al.*, 2012; Beltrán-Orozco, *et al.*, 2009), que al igual que las betalaínas, poseen actividades biológicas benéficas para el organismo como antialérgica, antimicrobiana, antioxidante, antitrombótica y cardioprotectiva (Balasundram *et al.*, 2006).

La actividad antioxidante de la pitaya se atribuye tanto a las betalaínas, como a los fenoles que se encuentran en la pulpa del fruto. Sin embargo, la caracterización de ambos grupos de compuestos se ha realizado sólo parcialmente (García-Cruz *et al.*, 2013; Beltrán-Orozco *et al.*, 2009), sin que a la fecha se cuente con la identidad particular de cada compuesto que conforma estos grupos de fitoquímicos. Esta información sería valiosa para estudios de estabilidad o de mezclas de pigmentos. En este contexto, los objetivos del trabajo fueron: caracterizar por HPLC-DAD-MS las betalaínas y fenoles de la pulpa del fruto de *Stenocereus pruinosus* y *Stenocereus stellatus*, así como determinar la capacidad antioxidante de dichos fitoquímicos.

5.1 MATERIALES Y MÉTODOS

5.2.1 Material vegetal

Se trabajó con los frutos de dos especies de pitaya, *Stenocereus pruinosus*, en sus variantes roja (*SpR*) y naranja (*SpN*); y *S. stellatus* en sus variantes roja (*SsR*) y blanca (*SsB*) provenientes de huertos familiares del municipio de Tepexi de Rodríguez, Puebla (18° 35' 46'' LN y 97° 55' 48'' LE), México, a 1644 msnm. Los frutos fueron cosechados en estado de madurez comercial, la cual ocurre cuando las espinas se desprenden con facilidad y la cáscara se vuelve brillante. Se utilizó un lote de 10 frutos por cada variante, a los cuales se les removi6 la cáscara de forma manual, y la pulpa se homogenizó y liofilizó.

5.2.2 Color de pulpa

Se determinó con un colorímetro Hunter Lab (Mini Scan XE Plus 45/0-L, USA) en escala CieLab (L^* , a^* , b^*). Con los valores de a^* y b^* se calculó ángulo de matiz ($H^* = \tan^{-1} b^*/a^*$) y pureza de color ($C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}$), en tanto que L^* se tomó como luminosidad (McGuire, 1992).

5.2.3 Betalaínas

5.2.3.1 Extracción

De cada muestra se pesaron 500 mg a los cuales se agregaron 25 mL de solvente, que fue metanol: ácido trifluoroacético (TFA) 1% en agua (80:20, v/v), posteriormente las muestras se colocaron en un baño de ultrasonido (Brason modelo 5510) durante

30 min y a continuación se dejaron en congelación a -20 °C durante 3 h. Transcurrido este tiempo, la muestra se centrifugó a 28000 g durante 10 min a 5 °C (Sorvall RC-5B), el sobrenadante se recuperó y al residuo se le realizaron dos extracciones más, en las condiciones antes mencionadas. Los sobrenadantes se juntaron y se concentraron para evaporar el metanol en un rotavapor (Büchi modelo B-480). Los extractos obtenidos fueron resuspendidos en 10 mL de agua destilada y guardados en congelación hasta su posterior análisis.

5.2.3.2 Análisis por HPLC-DAD-MS

Se utilizó un cromatógrafo de líquidos Hewlett-Packard 1100, (Agilent Technologies, Santa Clara, USA), equipado con una bomba cuaternaria, inyector automático, sistema de termostatación de columnas y detector de diodos en circuito integrado, dotado de una célula de flujo para altas presiones con conexión al espectrómetro de masas, acoplado a una estación de control y tratamiento de datos HP ChemStation. La separación se llevó a cabo mediante una columna Phenomenex 5 µm (150 x 4.6 mm), termostatación a 35 °C. Las fases móviles fueron: (A) ácido trifluoroacético 0.1% en agua y (B) 100% de acetonitrilo, y se optimizó el siguiente gradiente para la separación de compuestos: 0% de B a 10% de B en 15 min, 10% a 15 % de B en 5 min, 15% a 18% de B en 5 min, 18% a 50% de B en 10 min, 50% a 0% de B en 10 min, seguido de un equilibrado de la columna. Se trabajó con un flujo de 0.5 mL/min. Las longitudes de onda preferentes para la detección en el DAD fueron 530 y 480 nm, y se registraron los espectros UV-visible de los picos en el intervalo 220 nm a 600 nm.

Para el análisis por espectrometría de masas se empleó un espectrómetro de masas API 3200 Qtrap (Applied Biosystems), equipado con una sonda de ionización por electrospray (ESI) y un analizador de masas triple cuadrupolo que podía actuar además como trampa iónica, acoplado al software de tratamiento de datos Analyst 5.1. La detección se realizó en modo positivo, registrando espectros de masas entre m/z 100 y m/z 1000. Se empleó aire Zero como gas nebulizador (40 psi) y turbo gas (600 °C, 50 psi) para la eliminación del eluyente, y nitrógeno como gas cortina (100 psi) y de alta colisión. Para la adquisición de datos el método empleado fue *full scan* a alta sensibilidad (*Enhanced MS*, EMS), seguido de un análisis en modo *Enhanced Product Ion* (EPI) para obtener la fragmentación característica del ion mayoritario obtenido en el primer experimento. Los parámetros empleados en EMS fueron: voltaje de capilar, 5000 V; como potenciales: *declustering potential* (DP), -41 V; potencial de entrada (EP), 7.5 V, y energía de colisión (CE), 10 V. Las condiciones en modo EPI fueron: DP, 41 V; EP, 7.5 V; CE, 10 V, y *collision energy spread* (CES), 0 V.

La identificación de las betalainas se realizó tomando en cuenta los tiempos de retención, la longitud de onda, el ion molecular mayoritario y el patrón de fragmentación por espectrometría de masas, los cuales fueron comparados con lo reportado anteriormente en la literatura. Para la cuantificación de betacianinas y betaxantinas se elaboraron curvas tipo con indicaxantina y gomfrenina, aisladas en el laboratorio y purificadas por cromatografía en columna, en la cual se utilizó como material de soporte sílica gel C18 (Octadecyl-functionalized silica gel, Sigma Aldrich) y como eluyente agua destilada, las fracciones se recogieron y se inyectaron

en HPLC para comprobar su pureza. La indicaxantina se aisló a partir de la muestra SsR de pitaya y la gomfrenina de betabel. La pureza de estas betalaínas fue de 98 y 90 %, respectivamente. En la Figura 18 se muestran los cromatogramas respectivos.

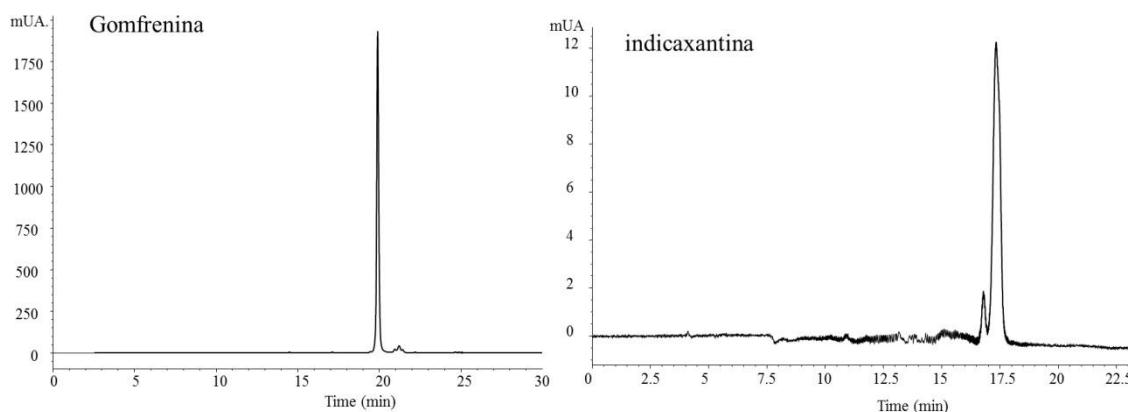


Figura 18. Cromatogramas de las betalaínas purificadas por cromatografía en columna y que fueron utilizadas como estándares para la cuantificación. Gomfrenina provino de betabel (*Beta vulgaris*), en tanto que la indicaxantina se obtuvo de la variante roja de *Stenocereus stellatus*.

5.2.4 Compuestos fenólicos

5.2.4.1 Extracción

Se pesó 1 g de cada una de las muestras y se agregaron 50 mL de metanol:TFA al 1 % en agua (80:20, v/v), posteriormente, las muestras se colocaron en un baño de ultrasonido (Brason modelo 5510) durante 30 min, a continuación se dejaron en congelación a -20 °C durante 3 h y seguidamente se centrifugaron a 28000 *g* durante 10 min a 5 °C (Sorvall RC-5B), el sobrenadante se recuperó y al residuo se le realizó otra extracción. Los sobrenadantes se juntaron y se concentraron a sequedad en un rotavapor (Büchi modelo B-480), el residuo se re-disolvió en 2 mL de agua destilada

y se centrifugó a 16800 *g* (EpendursHeraeusmod. Fresco 17). El extracto se depositó en un cartucho (WatersSep-Pak[®] Vac), previamente activado con 2 mL de metanol grado HPLC seguido de 4 mL de agua; para quitar los azúcares de la muestra se pasaron 20 mL de agua y, a continuación, se eluyeron los compuestos fenólicos con 8 mL de metanol grado HPLC. Este eluato se concentró a sequedad en un rotavapor (Büchi modelo B-480) y se re-suspendió en 250 µL de agua destilada para las muestras *SpN* y *SsB*, y en 500 µL en el caso de *SsR* y *SpR*.

5.2.4.2 Análisis por HPLC-DAD-MS

El análisis de compuestos fenólicos se realizó con el mismo equipo empleado para la caracterización de las betalaínas. La separación se llevó a cabo mediante una columna Waters Spherisorb 3 µm (150 x 4.6 mm), termostatzada a 35 °C. Las fases móviles fueron: (A) ácido fórmico 0.1% en agua y (B) 100% de acetonitrilo, y se estableció el siguiente gradiente: isocrático a 15% de B durante 5 min, 15% a 20% de B en 5 min, 20% a 25% de B en 10 min, 25% a 35% de B en 10 min, 35% a 10% de B en 10 min, seguido de un equilibrado de la columna. Se trabajó con un flujo de 0.5 mL/min. Las longitudes de onda preferentes para la detección en el DAD fueron 280 y 370 nm, y se registraron los espectros UV-visible de los picos en el intervalo 220 nm a 600 nm .

El análisis por espectrometría de masas se realizó en el mismo equipo y condiciones descritas para betalaínas, excepto que se utilizó detección en modo de ionización negativo. La identificación de los compuestos fenólicos presentes en la muestra se realizó de acuerdo a sus tiempos de retención, espectros UV-visible, ion molecular mayoritario y patrón de fragmentación por espectrometría de masas. La

cuantificación de cada tipo de fenol se realizó con curvas estándar de los ácidos cafeico, ferúlico y p-cumárico, eridictiol hexósido, taxifolina acetilhexosido, naringenina, quercetina rutinosido, isoramnetina rhamnosido y kaempferol hexosido.

5.2.5 Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza con comparación de medias con el estadístico Tukey ($\alpha = 0.5$) para determinar si existían diferencias estadísticas significantes entre cada variante. Los datos se analizaron con el paquete estadístico SAS (SAS Institute, 2002).

5.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.3.1 Características de color en la pulpa de las variantes de pitaya estudiadas

La variante con mayor luminosidad fue SsB, seguida de SpN y SpR y por último SsR. A pesar de que las variantes SpR y SsR ofrecen un color similar a la vista (Figura 19), el ángulo de tono fue estadísticamente diferente en ambas (Cuadro 10). De acuerdo con este parámetro la variante SpN es de color naranja-rojizo, SpR es rojo-magenta, SsR de color rojo oscuro y SsB de color blanco cristalino. La intensidad de color (croma) fue mayor en la variante SpN, seguida de SpR, SsR y por último SsB.

El color de las variantes coloreadas (SpR, SpN y SsR) se debe a la presencia de betalainas, no obstante, estudios realizados en diferentes clones de tuna demuestran que no hay diferencias en el ADN genómico entre aquellos frutos que presentan color frente aquellos que no tienen, y que la ausencia de pigmento puede ser atribuible a un

mecanismo de control complejo aún por definir (Felker *et al.*, 2008), es probable que algo similar ocurra en los frutos de pitaya que no tienen presencia de betalaínas.

Cuadro 10. Parámetros de color en variantes naranja (SpN) y roja (SpR) de *S. pruinosus* y roja (SsR) y blanca (SsB) de *S. stellatus*.

	<i>SpN</i>	<i>SpR</i>	<i>SsR</i>	<i>SsB</i>
Luminosidad	27.85 ± 7.31 b	20.82 ± 2.51 b	15.73 ± 1.44 c	41.98 ± 2.76 a
A	35.30 ± 4.74 a	28.54 ± 7.00 b	9.70 ± 2.75 c	-0.35 ± 0.18 d
B	24.72 ± 1.54 a	11.81 ± 1.97 b	2.74 ± 0.94 c	4.08 ± 0.91 c
Ángulo de tono	35.28 ± 4.83 b	22.87 ± 3.12 c	15.50 ± 1.47 d	95.29 ± 2.51 a
Intensidad de color	43.21 ± 3.62 a	30.92 ± 7.058 b	10.08 ± 2.90 c	4.10 ± 0.98 c

Medias con letras iguales en la misma fila indican que no hay diferencia estadística significativa, de acuerdo con la comparación de medias de Tukey ($\alpha=0.05$).

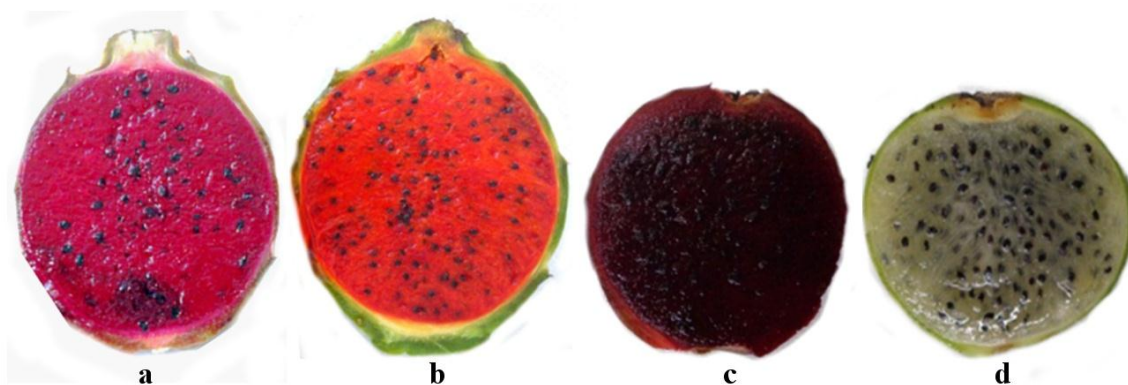


Figura 19. Frutos de pitaya de mayo (*Stenocereus pruinosus*) en sus variantes roja (a) y naranja (b), y de pitaya de agosto (*Stenocereus stellatus*) en sus variantes roja (c) y blanca (d).

5.3.2 Separación e identificación de betalainas por HPLC-DAD-MS

En el análisis por HPLC-DAD se separaron 13 betalainas, de las cuales las más numerosos fueron del grupo de las betacianinas, en el que se obtuvieron 10 picos; dentro del grupo de las betaxantinas sólo se apreciaron tres picos. Los perfiles cromatográficos de las pitayas con color (*SpR*, *SpN* y *SsR*) fueron parecidos, observándose únicamente una ligera variación en la proporción relativa de cada betalaina (Figura 20), con la excepción de que en la variante *SsR* no se observó la betacianina de tiempo de retención de 24.86 min, la cual no se logró identificar (Cuadro 11). El análisis por espectrometría de masas produjo los siguientes iones moleculares protonados $[MM-H]^+$: (1,2) m/z 309, (3, 5) m/z 551, (4) m/z 323, (6) m/z 507, (7, 8, 9) m/z 637, (10, 13) m/z 593, (11) m/z 652 y (12) m/z 651, los cuales seguidos de sus respectivos patrones de fragmentación, permitieron identificar 10 de las 13 betalainas (Cuadro 11). Los compuestos más abundantes en las tres muestras fueron la isoindicaxantina (2), gomfrenina I (3), filocactina (7) y sus respectivos isómeros (5, 9).

La gomfrenina I (3) y su isómero (5) son betacianinas glicosiladas, inicialmente aisladas a partir de las flores de *Gomphrena globosa* (Heur *et al.* 1992). La gomfrenina I es común en betabel, y tanto ésta, como su isómero, se han reportado en diferentes genotipos de *Hylocereus* sp de pulpa roja, lo mismo que la filocactina y su isómero, isofilocactina (Ezquivel *et al.* 2007). Las betaxantinas, indicaxantina (1) y vulgaxantina IV (4) se han identificado en la pulpa de tunas mexicanas (Castellanos-Santiago y Yahia, 2008). En estudios anteriores García-Cruz *et al.* (2013) analizaron dos variantes de color de fruto de *S. pruinosa*. En la variante roja encontraron sólo

dos betaxantinas y tres betacianinas, mientras que en la variante naranja reportaron dos betacianinas y dos betaxantinas, sin lograr identificar el tipo de betalainas, por lo que los resultados obtenidos en este trabajo complementan la caracterización de la betalainas provenientes de dos variantes con color de *S. pruinosa* y se añade la caracterización de una variante de *S. stellata*.

En lo que se refiere a la identificación de betalainas en cactáceas, las más estudiadas corresponden a frutos de los géneros *Hylocereus*, también conocidos como pitahaya, y *Opuntia*, localmente denominada como tuna. Anteriormente, los estudios realizados en *Hylocereus* indicaban sólo la presencia de betacianinas (Wybraniec *et al.*, 2001; Stintzing *et al.*, 2002), no obstante, la identificación de betaxantinas se ha incrementado en la medida que se han analizado mayor diversidad de genotipos (Esquivel *et al.*, 2007; Wybraniec *et al.*, 2009), o se han empleado técnicas analíticas más sofisticadas (Suh *et al.*, 2014). Por otra parte, trabajos realizados en *Opuntia*, indican mayor diversidad de betaxantinas que de betacianinas (Castellanos-Santiago *et al.*, 2008), sin embargo, en especies como *O. joconostle* y *O. myricorrhiza* sólo se han identificado betacianinas (Osorio-Esquivel *et al.*, 2011; Moussa-Ayaub *et al.*, 2011). De acuerdo con lo revisado en la literatura (Wybraniec *et al.*, 2009; Esquivel *et al.*, 2007, Castellanos-Santiago y Yahia, 2008), el perfil cromatográfico de las betalainas de la pulpa de los frutos de *S. pruinosa* y *S. stellata* sólo se diferencia de las de *Hylocereus* y *Opuntia* por la presencia de las betacianinas 6'-O-malonil-2-descarboxi-betanina, 6'-O-malonil-2-descarboxi-isobetanina y 2-descarboxi-betanina.

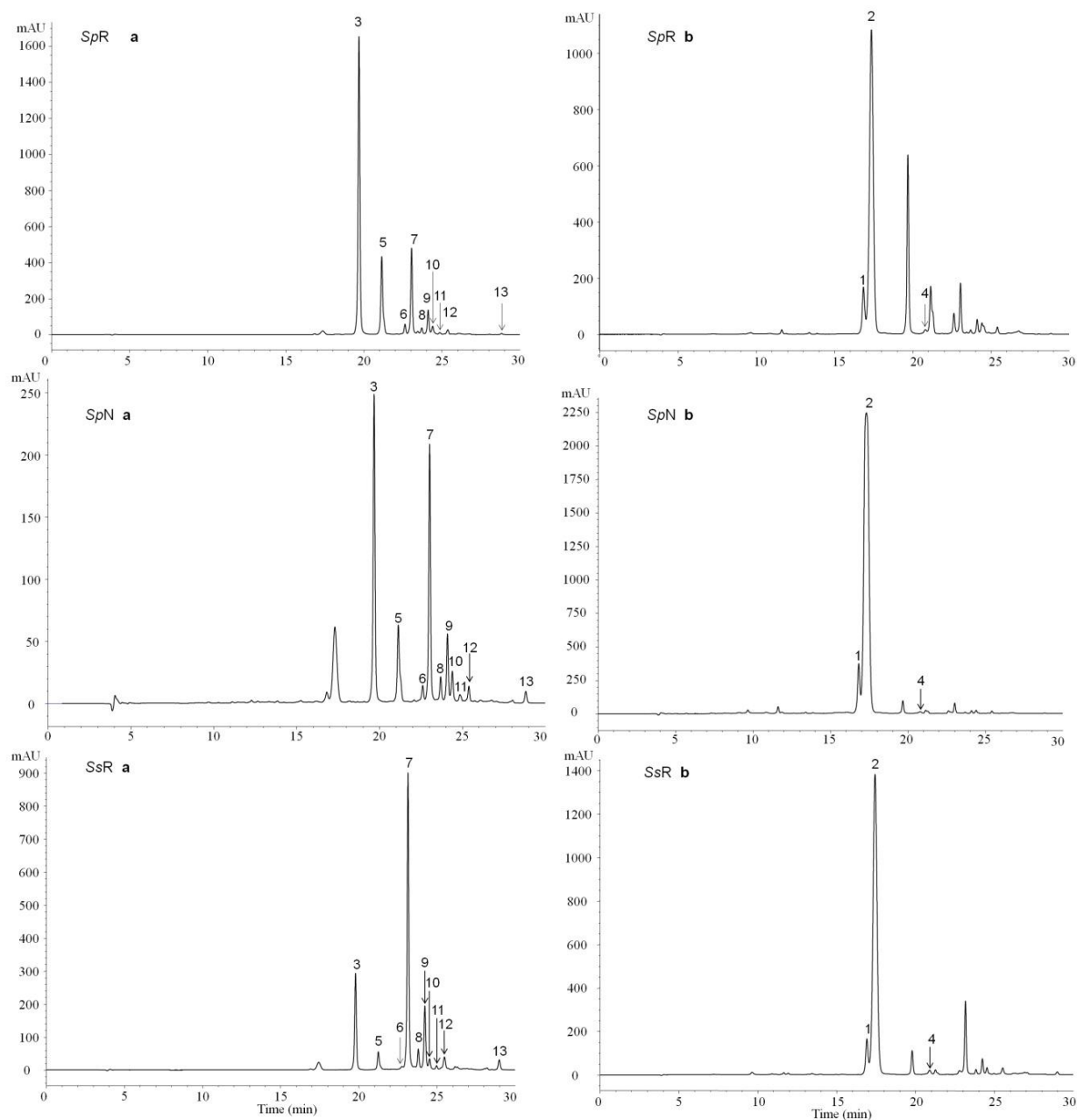


Figura 20. Perfil cromatográfico de las betalainas presentes en dos variantes de *Stenocereus pruinosus* (SpR: variante roja y SpN: variante naranja) y una de *Stenocereus stellatus* (SsR: variante roja). Los cromatogramas identificados con la letra **a** corresponden a una longitud de onda de 530 nm y los de la letra **b** a 480 nm

Cuadro 11. Identificación y cuantificación de betalainas or HPLC-DAD-MS en la pulpa de los frutos de la variante roja de *Stenocereus stellatus* (SsR) y de dos variantes, roja y naranja, de *Stenocereus pruinosus* (SpR y SpN). Concentraciones expresadas en µg/g muestra seca.

Pico	tr (min)	λ (nm)	Ion Molecular [M-H] ⁺ (m/z)	MS ² (m/z)	Compuesto	SpN	SpR	SsR
<i>Betacianinas</i>								
3	19.68	536	551	389	Gomfrenina I	Trazas c	3276.08 ± 9.24 a	509.09 ± 19.60 b
5	21.14	538	551	389	Isogomfrenina I	36.92 ± 7.4 b	972.57 ± 69.25 a	59.70 ± 5.65 b
6	22.77	498	507	345	2-descarboxi-betanina	Trazas a	65.69 ± 26.18 a	Trazas a
7	23.16	536	637	593, 554, 389	Filocactina	109.11 ± 0.33 b	798.38 57.6 ab	1449.66 ± 273.24 a
8	23.82	536	637		Desconocido	Trazas b	9.20 ± 4.54 b	53.95 ± 13.98 a
9	24.2	538	637	593, 551, 389	Isofilocactina	16.05 ± 0.7 b	190.60 ± 7.02 ab	269.97 ± 63.82 a
10	24.52	512	593	549, 507, 345	6'-O-malonil-2- descarboxi-betanina	Trazas b	42.19 ± 2.74 a	35.69 ± 5.32 a
11	24.86	538	652		Desconocido	Trazas a	Ausente a	Trazas a
12	25.4	514	651	389	Desconocido	Trazas a	55.66 ± 18.35 a	68.65 ± 46.74 a
13	28.9	536	593	549, 507, 345	6'-O-malonil-2- descarboxi-isobetanina	Trazas b	Trazas b	79.08 ± 2.52 a
Betacianinas totales						162.07 ± 7.03 c	5423.38 ± 135.32 a	2525.82 ± 326.76 b

Medias con letras iguales en la misma fila indican que no hay diferencia estadística significativa, de acuerdo con la comparación de medias de Tukey ($\alpha=0.05$).

Cuadro 11. Identificación y cuantificación de betalaínas or HPLC-DAD-MS en la pulpa de los frutos de la variante roja de *Stenocereus stellatus* (SsR) y de dos variantes, roja y naranja, de *Stenocereus pruinosus* (SpR y SpN). Concentraciones expresadas en µg/g muestra seca (Continuación).

Pico	tr (min)	λ (nm)	Ion Molecular [M-H] ⁺ (m/z)	MS ² (m/z)	Compuesto	SpN	SpR	SsR
<i>Betaxantinas</i>								
1	16.92	478	309	263, 235	Indicaxantina	1158.64 ± 147.34 a	1143.38 ± 148.42 a	1026.44 ± 179.65 a
2	17.42	478	309	263, 235	Isoindicaxantina	20894.82 ± 181.76 a	16563.32 ± 979.68 a	20970.47 ± 2363.25 a
4	20.9	470	323		Vulgaxantina IV	Trazas a	Trazas a	Trazas a
Betaxantinas totales						22053.46 ± 329.09 a	17706.72 ± 1128.12 a	21681.66 ± 1097.06 a
Betalaínas totales						22215.53 ± 336.13 a	23117.12 ± 1071.51 a	24522.75 ± 2869.68 a

Medias con letras iguales en la misma fila indican que no hay diferencia estadística significativa, de acuerdo con la comparación de medias de Tukey ($\alpha=0.05$).

5.3.4 Cuantificación de betalaínas por HPLC-DAD

La cuantificación de betalaínas comúnmente se realiza por espectrofotometría, utilizando una fórmula que toma en cuenta la absorbancia, el coeficiente de extinción molar y el peso molecular de betanina (betacianina) e indicaxantina (betaxantina) (Castellanos-Santiago y Yahia, 2008). En el presente trabajo la cuantificación se realizó por HPLC-DAD, utilizando curvas tipo de gomfrenina e indicaxantina, las cuales fueron purificadas por cromatografía en columna.

La técnica de separación por cromatografía en columna separó las betalainas de la variante SsR en siete fracciones, en las cuales se pudieron observar los colores de cada una de las betalainas presentes en la muestra (Figura 21); no obstante, la pureza de la mayoría de ellas no fue la suficiente para poder utilizarlas como estándares. Los primeros compuestos en eluir correspondieron a las betaxantinas, debido a que son más polares que las betacianinas.



Figura 21. Fracciones obtenidas de *Stenocereus stellatus* variante roja (SsR) durante la purificación en cromatografía en columna. Las betalainas predominantes en cada fracción fueron 1: indicaxantina, 2: isoindicaxantina, 3: gomfrenina I, 4: filocactina, 5: isofilocactina, 6: no identificado y 7: 6'-O-malonil-2-descarboxi-betanina.

En las variantes de color rojo y naranja predominaron las betaxantinas sobre las betacianinas, al igual que ocurre en tuna (Cejudo-Bastante *et al.* 2014). El mayor contenido de betacianinas se observó en la variante SpR (Cuadro 11), la cual tuvo poco más del doble que SsR, en la variante SpN se encontraron concentraciones muy bajas,

algunas de las betacianinas sólo estuvieron presentes en cantidades trazas. Respecto al contenido de betaxantinas no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre las tres variantes; no obstante, la pulpa de *SpN* a pesar de que es de color naranja-rojizo presentó un contenido de isoindicaxantina ligeramente inferior al de *SsR*, la cual es de color rojo oscuro. Los tipos de betacianinas más abundantes en *SsR* fueron filocactina > gomfrenina I > isofilocactina, algo similar se observó en la variante *SpN*. A diferencia de estas variantes, en *SpR* las de mayor concentración fueron la gomfrenina I > isogomfrenina I > filocactina > isofilocactina.

En las variantes *SpR* y *SsR* el contenido de betaxantinas fue de 3.5 y 8 veces mayor que el de betacianinas, respectivamente; sin embargo, el color de la pulpa en ambas variantes es rojo, por lo que se puede decir que el poder colorante que presentan las betacianinas es alto, tanto así que enmascaran el color amarillo típico de las betaxantinas (Cuadro 11). Con esta caracterización sobre el contenido de betalaínas se puede confirmar que la variación en el color que muestra la pulpa de las muestras analizadas se debe a la combinación tanto de los pigmentos amarillos (betaxantinas), como de los rojo-púrpura (betacianinas).

5.3.5 Separación, identificación y cuantificación de compuestos fenólicos por HPLC-DAD-MS

En este análisis se identificaron un total de 12 compuestos fenólicos, los cuales correspondieron a ácidos fenólicos, flavonoles y flavanonas (Cuadro 12). La variante con mayor diversidad de compuestos fenólicos fue la *SpR* con 12, seguida de *SsB*, *SpN* y *SpR*, con 10, 10 y 7 compuestos diferentes (Cuadro 12). En el perfil cromatográfico

(Figura 22) se puede notar que existen muchos picos que no fueron identificados, sin embargo, estos pueden corresponder a compuestos no fenólicos que absorben a una longitud de onda semejante, por ejemplo, a aminoácidos, ya que uno de los picos se identificó como fenilalanina.

De los ácidos fenólicos identificados, los derivados del caféico (ácido caféico hexósilo I y ácido caféico hexósilo II) y el ácido quínico p-coumaroil fueron comunes en las cuatro variantes de fruto analizadas, en tanto que el ácido ferúlico dihexósilo fue en tres, excepto en el fruto de pulpa roja de *S. pruinosus*. (*Ssp*). Estos ácidos fenólicos no han sido reportados previamente en cactáceas. Algunos ácidos fenólicos identificados en *O. joconostle* son: protocatecuico, vanílico, 4-hidroxibenzoico y el ácido hidroxicinámico (Osorio-Esquivel *et al.*, 2011). En *Myrtillocactus* se han descrito los ácidos caféico y gálico (Guzmán-Maldonado *et al.*, 2010), además del ácido ellágico y protocatecuico (Herrera-Hernández *et al.*, 2011).

5.3.6 Cuantificación de compuestos fenólicos por HPLC-DAD

La mayor concentración de fenólicos se observó en las variantes roja y blanca de la especie *S. stellatus*, entre las cuales no hubo diferencias estadísticas significativas, mientras que la menor concentración la tuvo la variante naranja de *S. pruinosus* (Cuadro 12); no obstante, no fue estadísticamente diferente a *SpR*.

Cuadro 12. Tiempo de retención (Tr), longitud de onda de máxima absorción ($\lambda_{\max}$), ion molecular protonado [M-H]⁺, patrón de fragmentación en el espectrómetro de masas, identificación tentativa y contenido de los compuestos fenólicos presentes en dos muestras de *S. pruinosa* (SpR: variante roja, SpN: variante naranja) y *S. stellatus* (SsR: variante roja y SsB: variante blanca). Concentraciones expresadas en $\mu\text{g/g}$ de muestra seca

Pico	Identificación tentativa	Tr (min)	$\lambda_{\max}$ (nm)	Ion molecular [M-H] ⁺ (m/z)	MS2 (m/z)	SpR	SpN	SsR	SsB
Ácidos fenólicos									
1	Ácido caféico hexósilo I	7.41	316	341	179, 135	35.4 ± 3.61 a	17.48 ± 2.31 b	18.09 ± 0.28 b	14.07 ± 0.72 b
3	Ácido caféico hexósilo II	8.85	316	341	179, 135	23.94 ± 2.2 a	7.91 ± 0.83 b	13.93 ± 2.04 b	12.69 ± 0.68 b
4	Ácido ferúlico dihexósilo	11.11	316	517	193, 149	ausente b	8.80 ± 1.13 b	28.37 ± 7.92 a	45.24 ± 5.55 a
6	Ácido quínico p-coumaroil	12.02	300	337	191, 173, 163, 145	12.14 ± 0.08 c	7.51 ± 0.10 d	15.61 ± 0.54 b	19.97 ± 0.52 a
Flavonoles									
9	Quercetina deoxihexosilhexósido	19.43	352	609	301	2.91 ± 0.13 b	4.16 ± 0.17 b	7.09 ± 0.17 a	7.19 ± 0.54 a
10	Kaempferol hexosido	20.79	348	447	285	ausente b	ausente b	3.50 ± 0.24 a	4.06 ± 0.25 a
12	Isorhamnetina hexósido I	23.44	356	623	315	1.17 ± 0.14 a	1.31 ± 0.13 a	ausente b	ausente b
13	Isorhamnetina hexósido II	24.07	356	623	315	ausente b	1.29 ± 0.01 a	ausente b	ausente b
Flavanonas									
7	Eridictiol hexósido	17.29	284	449	287	ausente b	ausente b	8.98 ± 1.33 a	ausente b
11	Eriodictiol acetilhexósido	22.42	284	491	287	ausente b	ausente b	12.31 ± 0.99 a	16.25 ± 1.77 a
8	Taxifolina acetilhexósido	18.29	296	507	303	ausente b	5.25 ± 0.55 b	8.02 ± 1.43 b	21.08 ± 2.56 a
14	Naringenina acetilhexósido	27.67	282	475	313, 271	ausente b	ausente b	5.91 ± 0.07 a	ausente b
Otros									
2	Tirosol	8.06	278	137	119	No cuantificado			
5	Triptofol hexósido	11.19	282	322	160	No cuantificado			
Total						75.58 ± 1.61 b	53.75 ± 2.95 b	121.86 ± 8.11 a	140.597 ± 9.059 a

Medias con letras iguales en la misma fila indican que no hay diferencia estadística significativa, de acuerdo con la comparación de medias de Tukey ($\alpha=0.05$).

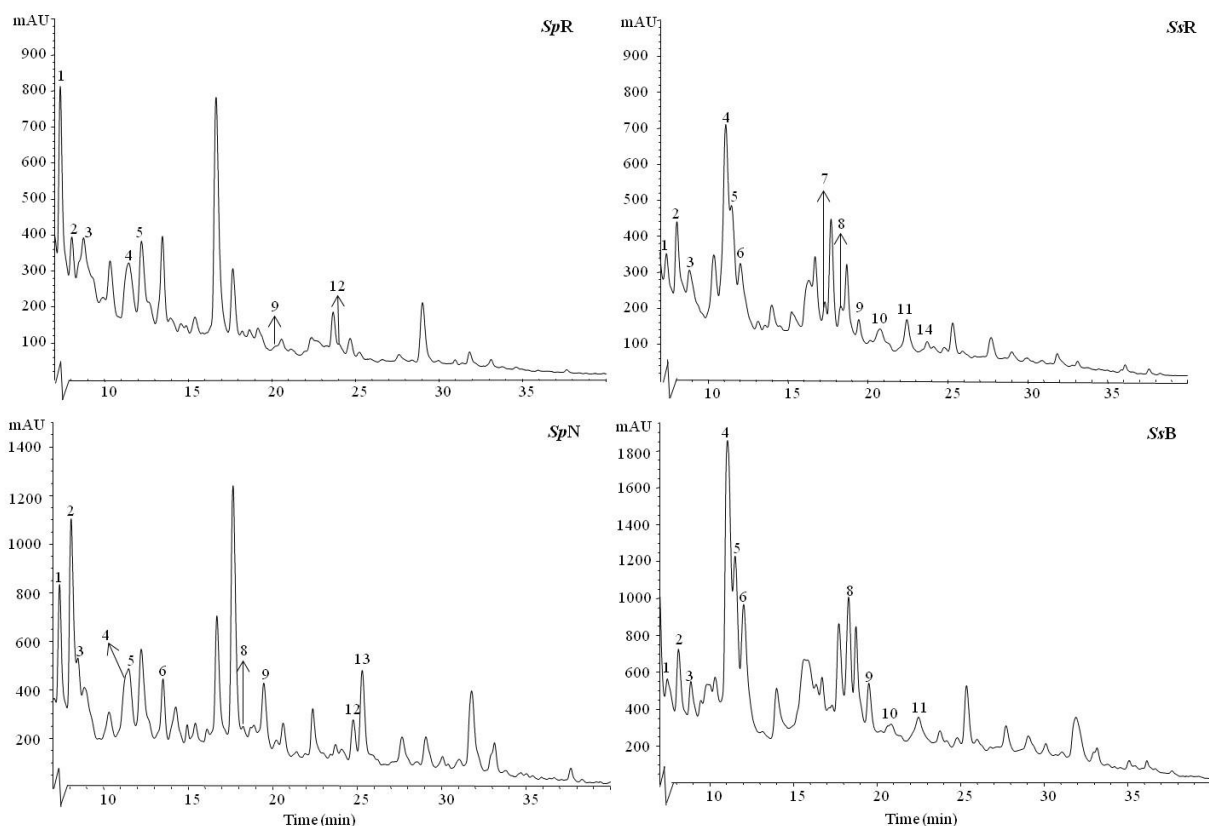


Figura 22. Perfil cromatográfico de los compuestos fenólicos presentes en dos variantes de *Stenocereus pruinosus* (SpR: variante roja y SpN: variante naranja) y de *Stenocereus stellatus* (SsR: variante roja, SsB: variante blanca), analizadas por HPLC-DAD-MS.

En *Hylocereus*, se ha reportado un mayor contenido de fenoles totales en la especie de fruto de color rojo (*H. polyrhizus*) que en la blanca (*H. undatus*). (Suh *et al.* (2014). Sin embargo, los autores realizaron la cuantificación de fenoles totales con el método de Folin-Ciocalteu, por lo que en la especie de fruto rojo pudo haberse sobreestimado el valor, dado que los anillos aromáticos de las betalainas pueden reacción con el reactivo de Folin.

En la variante SpR los compuestos predominantes fueron los ácidos fenólicos, constituidos por ácido caféico hexósilo I y II, seguidos del ácido ferúlico dihexósilo. La

muestra *SpN* tuvo como compuesto mayoritario el ácido caféico hexósilo I, y en concentraciones similares al ácido caféico hexósilo II y el ácido ferúlico dihexósilo. La variante *SsR* fue la que presentó una mayor diversidad de compuestos, con predominancia de ácido ferúlico dihexósilo > ácido caféico hexósilo I > ácido quínico p-coumaroil > ácido caféico hexósilo II > eridictiol acetilhexósido. En la muestra *SsB* se observaron dos compuestos menos que en *SsR*; sin embargo, fue en la que se encontró una mayor concentración de compuestos fenólicos totales, y en dicha muestra los compuestos más abundantes fueron el ácido ferúlico dihexósilo, taxifolina acetilhexósido, el ácido quínico p-coumaroil y eridictiol acetilhexósido (Cuadro 12).

5.3.6 Actividad antioxidante

La Figura 23 muestra la actividad antioxidante de las variantes evaluadas. Se puede notar que la variante roja de *S. stellatus* (*SsR*) es la que muestra una mayor actividad antioxidante con 9.21 ± 0.84 μ moles/g de muestra fresca, seguida de *SpR* (6.80 ± 0.33), *SpN* (3.91 ± 0.63) y *SsB* (2.41 ± 0.36), no obstante entre estas dos últimas no hubo deferencia estadísticamente significativa. Resultados similares a los encontrados en la variante *SpR* se han reportado en *O. ficus-indica* y *O. stricta* (Fernández-López *et al.*, 2010).

La actividad antioxidante está dada por la acción de betalaínas y compuestos fenólicos, en el Cuadro 11 se puede observar que el contenido de betalaínas en las muestras *SpR*, *SpN* y *SsR* es muy similar, sin embargo, el contenido total de compuestos fenólicos es mayor en *SsR*, lo cual se ve reflejado en el contenido de actividad antioxidante. No obstante, se puede notar que el mayor contenido de compuestos fenólicos (Cuadro 12) se

encuentra en la variante SsB; sin embargo, fue la que presentó la menor actividad antioxidante, por lo que se puede decir que el poder antioxidante que presentan las muestras se debe a la coacción de betalaínas y compuestos fenólicos.

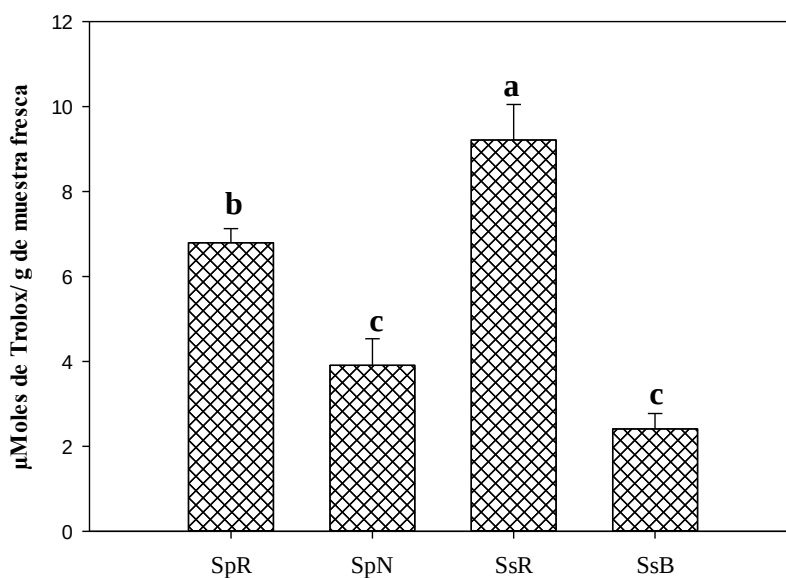


Figura 23. Actividad antioxidante de dos variantes de *Stenocereus pruinosus* (SpR: variante roja y SpN: variante naranja) y de *Stenocereus stellatus* (SsR: variante roja y SsB: variante blanca). Medias con letras iguales indican que no hay diferencia estadística significativa, de acuerdo con la comparación de medias de Tukey ($\alpha=0.05$).

De acuerdo con el análisis de correlación de Pearson (Cuadro 13), el contenido de betalaínas totales es la variable que presenta una mayor correlación positiva con la actividad antioxidante, no obstante, dicha correlación no fue estadísticamente significativa. Se ha reportado que en frutos donde la concentración de fenoles solubles totales es mayor, la capacidad antioxidante se debe a dichos compuestos aunque existan potentes antioxidantes como la vitamina C y E, y β -caroteno (Corral-Aguayo *et al.*, 2008), sin embargo, en el presente trabajo, se puede notar que el contenido de fenoles

solubles totales está poco correlacionado con la actividad antioxidante, aunque como ya se dijo antes, ésta última está dada tanto por la presencia tanto de betalaínas como de fenoles.

Cuadro 13. Matriz de correlación de betalaínas totales, fenoles y actividad antioxidante.

	Fenoles totales	Betalaínas totales	Actividad antioxidante
Fenoles totales	1.0000	-0.6310	0.0319
		0.093	0.940
Betalaínas totales	-0.6310	1.0000	0.7229
	0.093		0.043
Actividad antioxidante	0.0319	0.7229	1.0000
	0.940	0.043	

$P < 0.01$; correlación estadística significativa en el nivel de confianza del 99%

5.4 CONCLUSIONES

Los frutos de las variantes con color de *S. pruinosus* y *S. stellatus* presentaron un perfil similar de betalaínas, en donde las de mayor concentración fueron la indicaxantina, gomfrenina I, filocactina y sus respectivos isómeros. La mayor diversidad de compuestos fenólicos se observó en las variantes de la especie *S. stellatus*, con los ácidos fenólicos y las flavanonas como los más abundantes fueron. El alto contenido de betalaínas y compuestos fenólicos, así como la diversidad de los mismos, *Stenocereus* como una buena fuente de compuestos antioxidantes.

VI. CONCLUSIONES GENERALES

Las variantes estudiadas de *Stenocereus pruinosus* y *Stenocereus stellatus* presentaron un comportamiento postcosecha similar, característico de los frutos clasificados como no climatéricos. Las diferencias observadas en las variables fisiológicas y fisicoquímicas son atribuibles a que desde el inicio del almacenamiento los frutos presentaron características diferentes, las cuales se mantienen a través del tiempo. Se encontró que los frutos son muy susceptibles al ataque por hongos.

Se sabe que las betalainas y compuestos fenólicos aportan grandes beneficios a la salud, y en el presente trabajo se halló que los extractos de los frutos de *S. pruinosus* y *S. stellatus* contienen una elevada concentración de estos compuestos, lo cual se vio reflejado en la actividad antioxidante, por lo que difundir esta información es importante para que los consumidores conozcan los beneficios que les puede dar consumir frutos de pitaya y esto sea un plus para los productores.

VII. LITERATURA CITADA

Balasundram, N., Sundram, K. and Samman, S. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food chemistry. 99:191-2006.

Beltrán-Orozco M. C., Oliva-Coba T. G., Gallardo-Velázquez T., Osorio-Revilla G. 2009. Ascorbic acid, phenolic content, and antioxidant capacity of red, cherry, yellow and white types of pitaya cactus fruit (*Stenocereus stellatus* Riccobono). Agrociencia 43: 153-161.

Bravo-Hollis, H. y Sánchez-Mejorada. 1991. Las cactáceas de México. Vol. III. Tercera edición. UNAM. México. D.F. 643 p.

Casas, A., Caballero, J. and Valiente-Banuet, A. 1999. Use, management and domestication of columnar cacti in south-central México: a historical perspective. Journal of Ethnobiology. 19 (1):71-95.

Casas, A., Cruse-Sanders, J., Morales, E., Otero-Arnaiz, A. and Valiente-Banuet, A. 2006. Maintenance of phenotypic and genotypic diversity in managed populations of *Stenocereus stellatus* (Cactaceae) by indigenous peoples in Central Mexico. Biodiversity and conservation. 15:879-898.

Castellanos-Santiago E. and Yahia E. M. 2008. Identification and quantification of betalains from the fruits of 10 mexican prickly pear cultivars by high-performance liquid chromatography and electrospray Ionization mass spectrometry. Journal of Agricultural and Food Chemistry 56: 5758–5764.

- Cejudo-Bastante, M.J., M. Chalaal, H. Louaileche, J. Parrado, F. J. Heredia. 2014. Betalain profile, phenolic content, and color characterization of different parts and varieties of *O. ficus-indica*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 62: 8491–8499.
- Corral-Aguayo, R., Yahia, E. M., Carrillo-López, A. and González-Aguilar, G. 2008. Correlation between some nutritional components and the total antioxidant capacity measured with six different assays in eight horticultural crops. J. Agric. Food Chem. 56:10498-10504.
- Esquivel, P., Stintzing, F. C. and Carle, R. 2007. Pigment pattern and expression of colour in fruits from different *Hylocereus* sp. Genotypes. Innovative food science and emerging technologies. 8: 451-457.
- Felker, P., Stintzing, F. C., Müssig, E., Leitenberger, M., Reinold, C., Vogt, T. and Bunch, R. 2008. Colour inheritance in cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruits. Annals of applied biology. 152 (3): 307-318.
- Fernández-López, J. A., Almela, L., Obón, J. M. and Castellar, R. 2010. Determination of antioxidant constituents in cactus pear fruits. Plants foods hum nutr. 65:253-259.
- García-Cruz, L., Salinas-Moreno, Y. y Valle-Guadarrama, S. 2012. Betalaínas, compuestos fenólicos y actividad antioxidante en pitaya de mayo (*Stenocereus griseus* H.). Rev. Fitotec. Mex. 35(5): 1-5.
- García-Cruz, L., Valle-Guadarrama, S., Salinas-Moreno, Y. and Joaquín-Cruz, E. 2013. Physical, chemical, and antioxidant activity characterization of pitaya (*Stenocereus pruinosus*) fruits. Plant foods hum. Nutr. 68 (4): 403-410.
- Herrera-Hernández, M. G., Guevara-Lara, F., Reynoso-Camacho, R. and Guzmán-Maldonado, S. H. 2011. Effects of maturity stage and storage on cactus Berry (*Myrtillocactus geometrizans*) phenolics, vitamin C, betalaínas and their antioxidant properties. Food chemistry. 129:1744-1750.

- Heuer, S., V. Wray, J.W. Metzger, D. Strack. 1992. Betacyanins from flowers of *Gomphrena globosa*. *Phytochemistry* 31: 1801–1807(1992).
- Luna-Morales, C. C.; Aguirre-Rivera, J. R.; Peña-Valdivia, C. B. 2001. Cultivares tradicionales mixtecos de *Stenocereus pruinosus* y *S. stellatus*. (Cactaceae). *Anales del Instituto de Biología. Serie Botánica*. 72(2):131-155.
- Ochoa-Velazco, C. E. and Guerrero-Beltrán, J. A. 2013. Short-wave ultraviolet-C light effect on pitaya (*Stenocereus griseus*) juice inoculated with *Zygosaccharomyces bailii*. *Journal of food engineering*. 117: 34-41.
- Osorio-Esquivel, O., Ortiz-Moreno, A., Álvarez, V. B., Dorantes-Álvarez, L. and Giusti, M. M. 2011. Phenolics, betacyanins and antioxidant activity in *Opuntia joconostle* fruits. *Food research international*. 44:2160-2168.
- Pimienta-Barrios, E., Pimienta-Barrios, E., and Nobel, P. S. 2004 Ecophysiology of the pitayo de Querétaro (*Stenocereus queretaroensis*). *Journal of Arid Environments*. 59:1-17.
- Stintzing, F. C., R. Carle. 2007. Betalains – emerging prospects for food scientists. *Trends in Food Science & Technology*. 18: 514-525.
- Stintzing, F. C, Schieber, A. and Carle, R. 2002. Betacyanins in fruits from red-purple pitaya. *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Brintton & Rose. *Food chemistry*. 77: 101-106.
- Stintzing, F. C., Herbach, K. M., Mosshammar, M. R., Carle, R., Yi, W., Sellappan, S., Akoh, C. C., Bunchi, R. and Ferlker, P. 2005. Color, betalain pattern, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia* spp.) clones. *J. agric. food chem*. 53:442-541.
- Vidal, P. J., López-Nicolás, J. M., Gandía-Herrero, F. and García-Carmona, F. 2014. Inactivation of lipoxygenase and cyclooxygenase by natural betalains and semi-synthetic analogues. *Food chemistry*. 154: 246-254.

Wu L. C., Hsu H. W., Chen Y.C., Chiu C. C., Lin Y. I., Ho J. A. 2006. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. Food chemistry. 95: 319-327.

Wybraniec, S., Platzner, I., Geresh, S., Gottlieb, H. E., Haimberg, M. Mogilniyzki, M. and Mizrahi, Y. 2001. Betacyanins from vine cactus *Hylocereus polyrhizus*. Phytochemistry. 58: 1209-1212.

Wybraniec, S. Stalica, P., Jerz, G., Klose, B., Gebers, N., Winterhalter, P., Spórna, A., Szaleniec, M. and Mizrahi, Y. 2009. Separation of polar betalain pigments from cacti fruits of *Hylocereus polyrhizus* by ion-pair high-speed countercurrent chromatography. Journal of chromatography A. 1216: 6890-6899.

Zou, D., Brewer, M., Garcia, F., Feunggang, J. M., Wang, J., Zang, R., Liu, H. and Zou, C. 2005. Cactus pear: a natural product in cancer chemoprevention. Nutrition Journal 4: 25.