



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

**DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA
AGROINDUSTRIAL**

POSGRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA

**CONSERVACIÓN POSTCOSECHA Y APROVECHAMIENTO DE
COMPUESTOS BIOACTIVOS DE FRUTOS DE PITAYA
(*Stenocereus* sp.)**

TESIS

**Que como requisito parcial para
obtener el grado de:**



APROBADA

DOCTOR EN CIENCIAS AGROALIMENTARIAS



Presenta:

LETICIA GARCÍA CRUZ

Bajo la supervisión de: SALVADOR VALLE GUADARRAMA, DR.



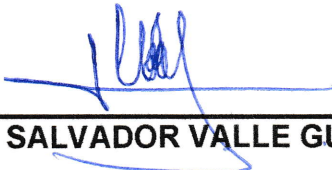
Chapingo, Estado de México, diciembre de 2021

**CONSERVACIÓN POSTCOSECHA Y APROVECHAMIENTO DE
COMPUESTOS BIOACTIVOS DE FRUTOS DE PITAYA
(*Stenocereus* sp.)**

Tesis realizada por **LETICIA GARCÍA CRUZ** bajo la supervisión del
Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como
requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS AGROALIMENTARIAS

DIRECTOR:



DR. SALVADOR VALLE GUADARRAMA

ASESORA:



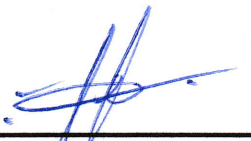
DRA. DIANA GUERRA RAMÍREZ

ASESORA:



DRA. MA. TERESA MARTÍNEZ DAMIÁN

ASESOR:



DR. HOLBER ZULETA PRADA

LECTOR EXTERNO:



DR. JUAN GABRIEL BÁEZ GONZÁLEZ

ÍNDICE GENERAL

LISTA DE CUADROS	viii
LISTA DE FIGURAS	x
DEDICATORIAS	xii
AGRADECIMIENTOS	xiii
DATOS BIOGRÁFICOS	xv
RESUMEN GENERAL	xvi
GENERAL ABSTRACT	xvii
1 INTRODUCCIÓN GENERAL	1
1.1 Objetivo general	3
1.2 Objetivos específicos	4
1.3 Hipótesis	4
1.4 Organización de la tesis	5
1.5 Literatura citada	6
2 PITAYA: RECURSO FITOGENÉTICO CON ALTO POTENCIAL DE PRODUCCIÓN	10
2.1 Resumen	10
2.2 Abstract	11
2.3 Introducción	12
2.4 Origen y distribución	12
2.5 Características climáticas y edáficas de las zonas de cultivo	13
2.6 Propagación y cultivo	14

2.7	Índices de cosecha y manejo postcosecha.....	15
2.8	Características morfológicas, físicas y químicas del fruto de <i>Stenocereus</i> sp.	17
2.8.1	Descripción morfológica y física del fruto	17
2.8.2	Composición proximal y análisis químico de la pulpa de pitaya	21
2.9	Betalaínas en frutos de <i>Stenocereus</i> sp.	26
2.10	Compuestos fenólicos en frutos de <i>Stenocereus</i> spp.....	28
2.11	Capacidad antioxidante	29
2.12	Usos y aplicaciones.....	31
2.12.1	Industrial Alimentaria	31
2.12.2	Medicinal.....	33
2.12.3	Otros usos.....	35
2.13	Conclusiones	35
2.14	Literatura citada.....	36
3	SHELF LIFE OF PITAYA [<i>Stenocereus pruinosus</i> (Otto ex Pfeiff.) Buxb.] FRUITS AFFECTED BY TEMPERATURE AND COATINGS OF GUAR GUM, BEESWAX, OLEIC ACID, AND THYME ESSENTIAL OIL	49
3.1	Abstract.....	49
3.2	Resumen	50
3.3	Introduction	51
3.4	Materials and methods.....	52
3.4.1	Plant material	52
3.4.2	Experimental organization	52
3.5	Response variables	53
3.5.1	Cumulative weight loss.....	53
3.5.2	Appearance	54

3.5.3	Color attributes	54
3.5.4	Firmness	54
3.5.5	Total soluble solids	54
3.5.6	pH and titratable acidity	54
3.5.7	Betalains content.....	54
3.5.8	Total soluble phenols content.....	55
3.5.9	Antioxidant capacity by ABTS and FRAP assays.....	55
3.5.10	Data analysis	56
3.6	Results and discussion	56
3.6.1	Color attributes.....	56
3.6.2	Cumulative weight loss.....	59
3.6.3	Appearance	61
3.6.4	Firmness	61
3.6.5	Chemical variables	62
3.6.6	Bioactive compounds	63
3.6.7	Antioxidant capacity	65
3.7	Conclusions	66
3.8	Acknowledgement	66
3.9	Literature cited	66
4	SEPARATION OF PITAYA (<i>Stenocereus pruinosus</i>) BETAXANTHINS, BETACYANINS, AND SOLUBLE PHENOLS THROUGH MULTISTAGE AQUEOUS TWO-PHASE SYSTEMS	71
4.1	Abstract.....	71
4.2	Resumen	72
4.3	Introduction	73

4.4	Materials and methods.....	76
4.4.1	Research organization	76
4.4.2	Plant material	76
4.4.3	Binodal phase diagram construction	77
4.4.4	Aqueous two-phase systems	78
4.4.5	Quantification of concentrations	79
4.4.6	Partition of betacyanins and betaxanthins using ATPS	81
4.4.7	HPLC analysis.....	82
4.4.8	Data analysis.....	83
4.5	Results and discussion	83
4.5.1	Binodal phase diagram.....	83
4.5.2	Volume phase ratio	84
4.5.3	Total soluble phenols	85
4.5.4	Total sugars	86
4.5.5	Separation of betacyanins and betaxanthins.....	87
4.5.6	Multistage ATPS processing	91
4.6	Conclusions	97
4.7	References	97
5	POTENCIAL PIGMENTANTE DE BETACIANINAS Y BETAXANTINAS SEPARADAS CON SISTEMAS ACUOSOS BIFÁSICOS DE FRUTOS DE PITAYA (<i>Stenocereus pruinosus</i>)	104
5.1	Resumen	104
5.2	Abstract	105
5.3	Introducción	106
5.4	Materiales y métodos.....	108

5.4.1	Material vegetal	108
5.4.2	Obtención del extracto	108
5.4.3	Caracterización del extracto	109
5.4.4	Ensayos de pigmentación	110
5.4.5	Análisis de datos	112
5.5	Resultados y discusión	112
5.5.1	Partición de betalaínas.....	112
5.5.2	Concentración de azúcares totales en los extracto de trabajo	113
5.5.3	Curvas de pigmentación.....	115
5.5.4	Estabilidad de la pigmentación.....	116
5.5.5	pH y acidez titulable de leche durante el almacenamiento.....	119
5.6	Conclusiones	121
5.7	Literatura citada	121
6	CONCLUSIONES GENERALES	126
7	ANEXOS.....	127
7.1	Artículos publicados.....	127

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1 Principales características de las especies <i>S. pruinosus</i> , <i>S. stellatus</i> , <i>S. queretaroensis</i> , <i>S. thurberi</i> y <i>S. griseus</i>	18
Cuadro 2. Composición proximal y características químicas de las especies de <i>Stenocereus</i> de mayor importancia económica.....	25
Cuadro 3. Contenido de betalainas en frutos <i>Stenocereus</i> spp.....	27
Cuadro 4. Contenido de fenoles solubles totales en la pulpa de frutos de <i>Stenocereus</i> spp.....	28
Cuadro 5. Description of treatments.....	53
Cuadro 6. Comparison of means of treatments corresponding to color attributes of pitaya fruits during the first six days (subscript 6d) and between days eight and 14 (subscript 8-14d) of storage at 12 and 25 °C.....	58
Cuadro 7. Comparison of means of treatments corresponding to cumulative weight loss, appearance, epicarp firmness, and pulp firmness in pitaya fruits during the first six days (subscript 6d) and between days eight and 14 (subscript 8-14d) of storage at 12 and 25 °C.....	60
Cuadro 8. Comparison of means of treatments corresponding to titratable acidity, pH, and total soluble solids in pitaya fruits during the first six days (subscript 6d) and between days eight and 14 (subscript 8-14d) of storage at 12 and 25 °C.....	63
Cuadro 9. Comparison of means of treatments corresponding to the content of total soluble phenols, the content of total betalains, and antioxidant activity determined with the ABTS and FRAP assays in pitaya fruits during the first six days (subscript 6d) and between days eighth and 14 (subscript 8-14d) of storage at 12 and 25 °C.....	65
Cuadro 10. Concentrations (%) of sodium citrate (Na3Cit) and 1-propanol corresponding to conditions of the aqueous two-phase systems (ATPS) identified on the binodal phase diagram.....	84

Cuadro 11. Concentration (C, $\mu\text{g/mL}$) and yield (Y, %) during multistage separation of betaxanthins (Bx) and betacyanins (Bc).....	96
Cuadro 12. Concentración de betalaínas de los extractos utilizados para la coloración de leche entera. Medias con la misma letra indican no diferencia estadística significativa.....	113
Cuadro 13. Concentración de azúcares en los extractos utilizados para pigmentar leche entera. FI, fase inferior y FS fase superior.....	115
Cuadro 14. Características de acidez, pH y color de leche natural y leches saborizadas comerciales.....	119

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Variantes de pitaya de mayo (<i>Stenocereus pruinosus</i>).....	19
Figura 2. Variantes roja y naranja de pitaya de Querétaro (<i>Stenocereus queretaroensis</i>).....	19
Figura 3. Variantes de pitaya de agosto (<i>Stenocereus stellatus</i>).....	20
Figura 4. External (left) and internal (right) appearance of red variant pitaya (<i>Stenocereus pruinosus</i>) fruits without thorns.....	52
Figura 5. Flow diagram corresponding to a multistage aqueous two-phase system (ATPS) for the partition of betalains from pitaya fruits into betacyanins and betaxanthins.....	82
Figura 6. Experimental data and adjustment to Merchuk et al. (1998) equation (A), binodal phase diagram (B), volume ratio (C), total soluble phenols concentration (D), and total sugars in top and bottom phases (E), corresponding to A-B and D-E tie lines.....	88
Figura 7. Extraction efficiency of betalains based on Na ₃ Cit-propanol systems....	89
Figura 8. Concentration of total betalains, betaxanthins, and betacyanins in the top and bottom phases of the A-B tie line (A, B) and top and bottom phases of D-E tie line (C, D) of the aqueous two-phase systems (ATPS).....	91
Figura 9. HPLC chromatograms corresponding to the bottom phase of the fifth separation (mixture M ₁₄ , Fig. 5) obtained at 480 and 530 nm.....	94
Figura 10. Chemical structure of indicaxanthin and gomphrenin I.....	94
Figura 11. Esquema de separación de betacianinas y betaxantinas por extracción acuosa en dos fases en multietapa.....	111

Figura 12. Espectros de absorción de las fracciones utilizadas para colorear leche. Extracto rico en betacianinas (E_{Rosa}) A), extracto con mezcla de betacianinas y betaxantinas (E_{Rojo}) B), extracto de betaxantinas (E_{Amarillo}) C) y extracto con mezcla de betacianinas y betaxantinas (E_{Naranja}) D).....	114
Figura 13. Curvas de pigmentación de leche con las fracciones obtenidas por ATPE. A) Extracto de betaxantinas (E_{Amarillo}), B) extracto con mezcla de betacianinas y betaxantinas (E_{Naranja}), C) extracto rico en betacianinas (E_{Rosa}) y D) extracto con mezcla de betacianinas y betaxantinas (E_{Rojo}).....	116
Figura 14. Evaluación del ángulo de todo de leche pigmentada con extractos de betalaínas almacenada a 4 °C.....	117
Figura 15 Color de leche pigmentada con extractos de betalaínas de pitaya en comparación con leches comerciales. a) E_{Rosa} , b) E_{Rojo} , c) leche sabor fresa, d) E_{Amarillo} , e) E_{Naranja} y f) leche sabor vainilla.....	119
Figura 16. Evaluación de acidez titulable y pH en leche pigmentada con extractos de betalaínas durante el almacenamiento a 4 °C.....	120

DEDICATORIAS

A Fernanda y Violeta, las niñas de mis ojos, mi pedacito de cielo en la tierra.

A mi mejor amigo, mi confidente, mi fortaleza, el amor de mi vida...Martín.

AGRADECIMIENTOS

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

Al Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, en particular al Doctorado en Ciencias Agroalimentarias, por permitirme seguir con mi desarrollo profesional.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para continuar con mis estudios de doctorado.

Al Dr. Salvador Valle Guadarrama por aceptar nuevamente trabajar conmigo e incluirme en su equipo de trabajo, por disposición y apoyo en todo momento, por confiar en mí, pero sobre todo por su valiosa amistad.

A la Dra. Diana Guerra Ramírez por su apoyo incondicional, por todos sus conocimientos compartidos, por la disposición que tiene para aclarar la más mínima duda, por confiar en mí, por la bonita amistad que me brindó y por todas esas palabras de aliento. Gracias.

A la Dra. Ma. Teresa Martínez Damián por aceptar ser parte del comité y por sus acertadas observaciones durante la elaboración del presente trabajo.

Al Dr. Holber Zuleta Prada por su orientación y sus acertadas observaciones para fortalecer esta investigación.

Al Dr. Ramón Marcos Soto Hernández del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, por darme la oportunidad de trabajar con él en su laboratorio, por

todas las facilidades brindadas, y por su invaluable apoyo para culminar este proyecto de investigación.

A la M.C. Rubén San Miguel Chávez del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, por su disposición durante el trabajo en el laboratorio, por su asesoría y amistad brindada.

DATOS BIOGRÁFICOS



Datos personales

Nombre: Leticia García Cruz

Fecha de nacimiento: 11 de noviembre de 1989

Lugar de nacimiento: Tepexi de Rodríguez, Puebla.

CURP: GACL891111MPLRRT08

Profesión: Ingeniero Agroindustrial

Desarrollo académico

Licenciatura: Ingeniería Agroindustrial, Universidad Autónoma Chapingo.

Maestría: Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo.

RESUMEN GENERAL

Conservación postcosecha y aprovechamiento de compuestos bioactivos de frutos de pitaya (*Stenocereus* sp.)

Pitaya es el nombre del fruto de las cactáceas del género *Stenocereus*. Los frutos presentan espinas en la epidermis, las cuales se desprenden cuando el fruto madura. La pulpa puede tener distintos colores debido a la presencia de betalaínas. La vida postcosecha es corta e inferior a 5 d a temperatura ambiente, debido a proliferación de hongos, por lo que es necesario utilizar tecnologías que incrementen la vida de anaquel. Por ser una fuente importante de betalaínas, la pulpa puede aprovecharse para extraer este tipo de compuestos. El objetivo del trabajo fue incrementar la vida postcosecha del fruto de pitaya y desarrollar una estrategia para extraer compuestos bioactivos de su pulpa, con el fin de incrementar el valor agregado de este recurso fitogenético. Se condujo un almacenamiento a 12 y 25 °C con frutos de pitaya recubiertos con un biopolímero formulado a base de goma guar e incorporados con aceite esencial de tomillo para controlar el desarrollo fúngico. La temperatura fue el factor que más influyó en la conservación postcosecha. El recubrimiento, en combinación con manejo a 12 °C, redujo la pérdida de peso, mantuvo la apariencia y ayudó a mantener las características de calidad, así como el contenido fitoquímico durante 15 d. En adición, se evaluó el uso de sistemas acuosos bifásicos con citrato de sodio (Na_3Cit) entre 6.57 y 34.05 % y 1-propanol entre 4.21 y 60.54 % y se demostró el potencial para separar betalaínas con eficiencia superior a 90 %. Con un sistema basado en 1-propanol y citrato de sodio en concentraciones de 60.54 y 6.57 %, respectivamente, aplicado en etapas múltiples, se obtuvieron cuatro fracciones con tonalidad que varió del amarillo al rojo y se confirmó el potencial de pigmentación de bebidas lácteas. Se demostró la factibilidad de incrementar el valor agregado del fruto de pitaya.

Palabras clave: betalaínas, compuestos fenólicos, fraccionamiento de betalaínas, recubrimiento polimérico, *Stenocereus pruinosus*, vida de anaquel.

Tesis de Doctorado en Ciencias Agroalimentarias, Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo.

Autor: M. C. Leticia García Cruz

Director de tesis: Dr. Salvador Valle Guadarrama

GENERAL ABSTRACT

Postharvest conservation and use of bioactive compounds from pitaya fruits (*Stenocereus* sp.)

Pitaya is the name of the fruit of the cacti of the genus *Stenocereus*. The fruits have thorns on the epidermis which are detached when the fruit ripens. The pulp can have different colors due to the presence of betalains. The postharvest life is short and less than 5 d at room temperature due to the proliferation of fungi, so it is necessary to use technologies to increase the shelf life. Being an important source of betalains, the pulp can be used to extract this type of compounds. The objectives of the work were to increase the postharvest life of the pitaya fruit and to develop a strategy to extract bioactive compounds from its pulp in order to increase the added value of this phytochemical resource. Storing was conducted at 12 and 25 °C with pitaya fruits coated with a biopolymer formulated based on guar gum and incorporated with thyme essential oil to control fungal development. Temperature was the factor that most influenced postharvest conservation. The coating, in combination with handling at 12 °C, reduced weight loss, maintained appearance, and helped maintaining quality characteristics, as well as the phytochemical content for 15 d. In addition, the use of aqueous biphasic systems with sodium citrate (Na_3Cit) between 6.57 and 34.05% and 1-propanol between 4.21 and 60.54% was evaluated and the potential to separate betalains with efficiency greater than 90% was demonstrated. With a system based on 1-propanol and sodium citrate in concentrations of 60.54 and 6.57%, respectively, applied in multiple stages, four fractions with hue that varied from yellow to red were obtained and the pigmentation potential of dairy beverages was confirmed. The feasibility of increasing the added value of the pitaya fruit was demonstrated.

Key words: betalains, betalain fractionation, phenolic compounds, polymer coating, shelf life, *Stenocereus pruinosus*.

Thesis of Ph.D. in Ciencias Agroalimentarias, Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo.

Author: M. C. Leticia García Cruz

Thesis director: Dr. Salvador Valle Guadarrama

1 INTRODUCCIÓN GENERAL

En México más del 50 % de su territorio pertenece a zonas áridas y semiáridas, en donde una de las características principales es la pobreza de nutrientes presentes en el suelo, temperaturas extremas y escasas de agua (Tarango-Arámbula, 2005). En tales condiciones es difícil producir cultivos altamente redituables y con altos rendimientos. El cultivo de cactáceas es una de las alternativas de producción en este tipo de climas y en algunas regiones se encuentran plenamente establecidos los cultivos de tuna (*Opuntia* sp.) y pitahaya (*Hylocereus* sp.). El cultivo de pitaya (*Stenocereus* sp.) ha tomado importancia recientemente y en los últimos 10 años la producción se incrementó 1.7 veces, con más del 92% de la producción nacional concentrada en los estados de Jalisco, Oaxaca y Puebla (SIAP, 2020). El género *Stenocereus* se encuentra ampliamente distribuido desde el sur de Arizona hasta Venezuela, siendo México en donde crece el mayor número de estas especies (Bravo-Hollis & Sánchez-Mejorada, 1978). Al respecto, se han identificado 24 especies del género *Stenocereus*, de las cuales 17 son endémicas de México, donde ya se encuentran establecidas como cultivo, las especies *S. queretaroensis*, *S. pruinosus*, *S. stellatus* y *S. thurberi*. No obstante, la mayor diversidad se encuentra en estado silvestre (Bravo-Hollis & Sánchez-Mejorada, 1991).

El género *Stenocereus* sp. se caracteriza por un desarrollo en forma de cactus columnares; los frutos son bayas poliespermáticas, con espinas que se desprenden cuando los frutos están maduros y con pulpa de distintos colores (Bravo-Hollis, 1978). Los frutos se consumen ya sea en fresco o en estado procesado, por ejemplo en mermeladas, jaleas, licores, yogur, helados, etc. (Santacruz-Vázquez et al., 2009).

Las cuatro especies de mayor importancia económica por el valor de sus frutos tienen una amplia variabilidad, ya que de cada especie se han reportado variantes tanto en color, forma, tamaño y sabor (Casas et al., 1997). Se han documentado cinco variantes en *S. queretaroensis* (Pimienta-Barrios & Nobel, 1994), en *S. pruinosus* 31, y nueve en *S. stellatus*. Sin embargo; Luna-Morales (2006) señaló que faltan muchas variantes por caracterizar en la región de estudio que seleccionó en Oaxaca. Además, de las especies de *S. pruinosus* y *S. stellatus* sólo se han identificado las variantes de ese estado de Oaxaca, pero existe mucha variabilidad en el estado de Puebla y no se han estudiado muchas de las variantes. En lo que corresponde a la especie *S. queretaroensis*, sólo se ha trabajado con las especies del estado de Jalisco (Pimienta-Barrios & Nobel, 1995), faltando identificar las variantes de Querétaro, Nayarit, Zacatecas y Guanajuato.

El consumo principal de los frutos de pitaya se realiza en fresco; sin embargo, la comercialización se limita a las zonas de producción debido a la alta perecibilidad de los frutos derivada, principalmente, por desarrollo fúngico. Se ha reportado que a temperatura ambiente la vida de anaquel no es mayor a 5 d (García-Cruz et al., 2016), por lo que se han hecho esfuerzos por alargar el almacenamiento postcosecha utilizando tecnologías como la refrigeración y el uso de polímeros como recubrimiento; no obstante, sólo se han logrado el alargamiento de la vida útil hasta 12 d (Hernández-Valencia et al., 2019). En tal sentido, es importante buscar estrategias que permitan incrementar la vida postcosecha de los frutos, ya que recientemente se ha incursionado en la exportación hacia Estados Unidos, por lo que es imperante la necesidad de buscar ganar más días en el mercado. El uso de aceites esenciales es una alternativa que puede contribuir al control del desarrollo fúngico en productos hortofrutícolas en postcosecha. Shirai et al. (2016) mostraron que, con refrigeración y el uso de recubrimientos biopoliméricos incorporados con un aceite esencial, es factible incrementar la vida útil del fruto de pitaya.

En adición, los frutos tienen un alto potencial nutracéutico, ya que se ha identificado la presencia de metabolitos secundarios como betalaínas, las cuales son los compuestos responsables del color. Asimismo, se ha identificado la presencia de compuestos fenólicos (García-Cruz et al., 2017). Ambos grupos de compuestos exhiben alta capacidad para reducir la presencia de radicales libres (García-Cruz et al., 2017; Pérez-Loredo et al., 2016) y, en tal sentido, pueden contribuir al combate de diferentes enfermedades neurodegenerativas (Fraga et al., 2019; Shunan et al., 2021). La extracción de éstos compuestos se ha llevado a cabo mayormente por maceración y empleando disolventes como metanol o etanol (Celli & Brooks, 2017). Además, para la separación se han utilizado técnicas como cromatografía de permeación en gel, cromatografía en columna en fase normal y en fase reversa, cromatografía de líquidos de alta resolución fase reversa y cromatografía de intercambio iónico (Pires-Gonçalves et al., 2012). Sin embargo, estas técnicas son caras y difícilmente escalables. Una alternativa es el uso de la extracción acuosa en dos fases. En estudios previos, este procedimiento se ha empleado para reducir el contenido de azúcares de los extractos de betalaínas provenientes de la pulpa de pitaya (Sandate-Flores et al., 2020; Vargas-Campos et al., 2018). Asimismo, hay evidencia que sugiere que la técnica de extracción acuosa en dos fases tiene el potencial para fraccionar las betalaínas en betacianinas y betaxantinas (Chandrasekhar et al., 2015), aunque no se ha optimizado un método que permita, a partir de una sola muestra, obtener materiales de distinta tonalidad, en todo el rango que proveen ambos grupos de compuestos.

En este contexto, el presente trabajo se desarrolló con los siguientes objetivos:

1.1 Objetivo general

- Evaluar el uso de aceite esencial de tomillo como agente antimicrobiano para incrementar la vida postcosecha del fruto de pitaya y desarrollar una estrategia para extraer compuestos bioactivos de su pulpa, con el fin de incrementar el valor agregado de este recurso fitogenético

1.2 Objetivos específicos

- Evaluar la aplicación de recubrimientos poliméricos adicionados aceite esencial de tomillo para alargar la vida de anaquel de frutos de pitaya almacenados a 12 °C y 25 °C.
- Evaluar el uso de la técnica de extracción acuosa en dos fases para separar betalaínas, fenoles y azúcares, así como fraccionar betalaínas en betacianinas y betaxantinas.
- Evaluar el potencial pigmentante de las betalaínas fraccionadas por extracción acuosa en dos fases en multietapa mediante la estabilidad de color de leche de vaca.

1.3 Hipótesis

- El aceite esencial de tomillo inhibe el crecimiento de los hongos que crecen en frutos de pitaya durante el almacenamiento.
- El uso de recubrimientos poliméricos ayuda a conservar las características de calidad de los frutos de pitaya.
- La acción conjunta de recubrimientos poliméricos adicionados con aceite esencial de tomillo y el uso de refrigeración prolongará la vida postcosecha de frutos de pitaya.
- El 1-propanol y el citrato de sodio formarán un sistema bifásico.
- El sistema bifásico formado por 1-propanol y citrato de sodio separará compuestos fenólicos, betalaínas y azúcares provenientes de la pulpa de pitaya.
- El sistema bifásico formado por 1-propanol y citrato de sodio permitirá fraccionar las betalaínas en betacianinas y betaxantinas con un alto grado de pureza.
- Las betalaínas fraccionadas por ATPE brindarán a la leche de vaca colores semejantes a los de la leche sabor fresa y vainilla.

1.4 Organización de la tesis

El presente trabajo está desarrollado en capítulos. El **Capítulo 1** corresponde a la introducción general.

En el **Capítulo 2** corresponde al estado del arte del género *Stenocereus*. Al respecto, se hizo una revisión detallada sobre los requerimientos edafoclimáticos del cultivo, métodos de propagación y cultivo, índices de cosecha y manejo postcosecha, así como las características morfológicas, físicas, químicas y fitoquímicas de los frutos de pitaya, además de sus principales usos. También se hizo una investigación en campo para hacer una compilación fotográfica de algunas de las variantes de *S. pruinosus* y *S. stellatus*.

En el **Capítulo 3** se evaluó el uso de recubrimientos biopoliméricos adicionados con aceite esencial de tomillo para alargar la vida postcosecha de los frutos de pitaya. Se probaron cuatro tratamientos; el primero consistió en un testigo, el segundo consistió en una emulsión de 1000 ppm de aceite esencial de tomillo en agua, el tercero fue una emulsión de 1 % de goma guar y 15 % fase lipídica, la cual se formó con 50 % cera de abeja y 50 % ácido oleico, en tanto que el cuarto tratamiento fue una emulsión compuesta por 1 % goma guar, 15 % del componente lipídico y 1000 ppm de aceite esencial de tomillo. Dichos tratamientos fueron almacenados a 12 y 25 °C, con 90 y 75 % de humedad relativa respectivamente. Se observó que la temperatura de refrigeración y el uso de los recubrimientos poliméricos conservaron las características físicas, químicas y organolépticas de los frutos, así como el contenido fitoquímico, sin cambios significativos durante el periodo de almacenamiento. Este capítulo fue publicado en la revista Acta Agrícola y Pecuaria (García-Cruz, Guerra-Ramírez, et al., 2021) por lo que el formato del artículo y el contenido son los mismos que la publicación.

En el **Capítulo 4** se evaluó el uso de la técnica de extracción acuosa en dos fases utilizando 1-propanol y citrato de sodio para formar un sistema bifásico, el cual se usó para la separación de betalaínas, compuestos fenólicos y azúcares. Se probaron cuatro puntos del diagrama de fases para identificar las mejores condiciones en las cuales se extraen los compuestos de interés. Se observó que

la mayor concentración de dichos compuestos se obtuvo en la fase inferior, y que las condiciones evaluadas favorecieron la migración de betaxantinas hacia la fase superior. Se seleccionó una condición de trabajo con apoyo de un diagrama binodal de fases, con lo cual se condujo un proceso de extracciones en multietapa. A este respecto, después de cuatro extracciones sucesivas de una de las fases de los sistemas formados se logró un fraccionamiento de betalaínas en betacianinas y betaxantinas. Este capítulo se publicó en la revista Food and Bioprocess Technology (García-Cruz, Valle-Guadarrama, et al., 2021) por lo que el idioma y el formato en la presente tesis conserva el del publicado en la revista. En el **Capítulo 5** se evaluó el potencial pigmentante de los extractos obtenidos con una operación de separación acuosa en dos fases realizado con una estrategia en multietapa. Se demostró que los frutos de pitaya pueden ser fuente de pigmentos naturales y que éstos pueden usarse para controlar el color de bebidas lácteas con tonalidades que van del rojo al amarillo.

1.5 Literatura citada

- Bravo-Hollis, H., & Sánchez-Mejorada, H. (1978). *Las cactáceas de México* (Segund edición). Universidad Nacional Autónoma de México.
- Bravo-Hollis, H., & Sánchez-Mejorada, H. (1991). *Las Cactáceas de México* (Primera edición). Universidad Nacional Autónoma de México.
- Casas, A., Pickersgill, B., Caballero, J., & Valiente-Banuet, A. (1997). Ethnobotany and Domestication in Xoconochtlí, *Stenocereus stellatus* (Cactaceae), in the Tehuacan valley and La Mixteca Baja, Mexico. *Economic Botany*, 51(3), 279–292. <https://doi.org/10.1007/BF02862097>
- Celli, G. B., & Brooks, M. S. L. (2017). Impact of extraction and processing conditions on betalains and comparison of properties with anthocyanins — A current review. *Food Research International*, 100, 501–509. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.08.034>
- Chandrasekhar, J., Sonika, G., Madhusudhan, M. C., & Raghavarao, K. S. M. S.

- (2015). Differential partitioning of betacyanins and betaxanthins employing aqueous two-phase extraction. *Journal of Food Engineering*, 144, 156–163. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.07.018>
- Fraga, C. G., Croft, K. D., Kennedy, D. O., & Tomás-Barberán, F. A. (2019). The effects of polyphenols and other bioactives on human health. *Food and Function*, 10(2), 514–528. <https://doi.org/10.1039/c8fo01997e>
- García-Cruz, L., Dueñas, M., Santos-Buelgas, C., Valle-Guadarrama, S., & Salinas-Moreno, Y. (2017). Betalains and phenolic compounds profiling and antioxidant capacity of pitaya (*Stenocereus* spp.) fruit from two species (*S. pruinosus* and *S. stellatus*). *Food Chemistry*, 234, 111–118. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2017.04.174>
- García-Cruz, L., Guerra-Ramírez, D., Martínez-Damián, M. T., Zuleta-Prada, H., & Valle-Guadarrama, S. (2021). Shelf life of pitaya [*Stenocereus pruinosus* Otto ex Pfeiff .) Buxb .] fruit affected by temperature and guar gum , beeswax , oleic acid , and thyme essential oil coatings. *Acta Agrícola y Pecuaria*, 7(1), E0071011. <https://doi.org/https://doi.org/10.30973/aap/2021.7.0071011>
- García-Cruz, L., Valle-Guadarrama, S., Salinas-Moreno, Y., & Luna-Morales, C. del C. (2016). Postharvest quality, soluble phenols, betalains content, and antioxidant activity of *Stenocereus pruinosus* and *Stenocereus stellatus* fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 111, 69–76. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.07.004>
- García-Cruz, L., Valle-Guadarrama, S., Soto-Hernández, R. M., Guerra-Ramírez, D., Zuleta-Prada, H., Martínez-Damián, M. T., & Ramírez-Valencia, Y. D. (2021). Separation of pitaya (*Stenocereus pruinosus*) betaxanthins, betacyanins, and soluble phenols through multistage aqueous two-phase systems. *Food and Bioprocess Technology*. <https://doi.org/10.1007/s11947-021-02676-1>
- Hernández-Valencia, C. G., Román-Guerrero, A., Aguilar-Santamaría, Á., Cira, L., & Shirai, K. (2019). Cross-linking chitosan into

hydroxypropylmethylcellulose for the preparation of Neem oil coating for postharvest storage of pitaya (*Stenocereus pruinosus*). *Molecules*, 24. <https://doi.org/10.3390/molecules24020219>

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, México. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 12(2), 245–251.

Pérez-Loredo, M. G., García-Ochoa, F., & Barragán-Huerta, B. E. (2016). Comparative Analysis of Betalain Content in *Stenocereus Stellatus* Fruits and Other Cactus Fruits Using Principal Component Analysis. *International Journal of Food Properties*, 19(2), 326–338. <https://doi.org/10.1080/10942912.2015.1022259>

Pimienta-Barrios, E., & Nobel, P. S. (1995). Reproductive characteristics of pitayo (*Stenocereus queretaroensis*) and their relationships with soluble sugars and irrigation. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 120(6), 1082–1086. <https://doi.org/10.21273/jashs.120.6.1082>

Pimienta-Barrios, E., & Nobel, P. S. (1994). Pitaya (*Stenocereus* spp., Cactaceae): An ancient and modern fruit crop of Mexico. *Economic Botany*, 48(1), 76–83. <https://doi.org/10.1007/BF02901385>

Pires-Gonçalves, L. C., De Souza-Trassi, M. A., Barbosa-Lopes, N., Dörr, F. A., Teixeira dos Santos, M., Baader, W. J., Oliveira, V. X., & Leite-Bastos, E. (2012). A comparative study of the purification of betanin. *Food Chemistry*, 131, 231–238. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.067>

Sandate-Flores, L., Rodríguez-Rodríguez, J., Velázquez, G., Mayolo-Deloisa, K., Rito-Palomares, M., Torres, J. A., & Parra-Saldívar, R. (2020). Low-sugar content betaxanthins extracts from yellow pitaya (*Stenocereus pruinosus*). *Food and Bioprocess Processing*, 121, 178–185. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.02.006>

Santacruz-Vázquez, C., Santacruz-Vázquez, V., & Huerta-Espinosa, V. M.

- (2009). *Agroindustrialización de pitaya*. Editorial Universitaria.
- SIAP (2019). Servicio de información agroalimentaria y pesquera. México: Gobierno de México. <https://www.gob.mx/siap>.
- Shunan, D., Yu, M., Guan, H., & Zhou, Y. (2021). Neuroprotective effect of betalain against AlCl₃-induced alzheimer's disease in sprague dawley rats via putative modulation of oxidative stress and nuclear factor kappa B (NF- κ B) signaling pathway. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 137, 111369. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2021.111369>
- Shirai, K., Hernandez, C. G., Mejía, P., Blanco, S., Román-Guerrero, A., Yañez L., Escalona-Buendía, H. B. (2016). Postharvest preservation of cactus fruits produced in semidesertic area of Oaxaca by biopolymer coatings. *The International Journal of Interdisciplinary Social Sciences: Annual Review*, 11, 15–26. <http://doi.org/10.18848/1833-1882/CGP/15-26>
- Tarango-Arámbula, L. A. (2005). Problemática y alternativas de desarrollo de las zonas áridas y semiáridas de México. *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas*, IV(2), 17–21.
- Vargas-Campos, L., Valle-Guadarrama, S., Martínez-Bustos, F., Salinas-Moreno, Y., Lobato-Calleros, C., & Calvo-López, A. D. (2018). Encapsulation and pigmenting potential of betalains of pitaya (*Stenocereus pruinosus*) fruit. *Journal of Food Science and Technology*, 55(7), 2436–2445. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3161-7>

2 PITAYA: RECURSO FITOGENÉTICO CON ALTO POTENCIAL DE PRODUCCIÓN

2.1 Resumen

El género *Stenocereus* lo integran 24 especies originarias del continente Americano, crecen desde el sur de Estados Unidos hasta América Central. Son cactáceas columnares conocidas como pitayas, producen frutos de forma ovoide-globosa y de colores vistosos, con espinas caducas. Las especies de mayor importancia económica debido al valor de sus frutos son *S. queretaroensis*, *S. pruinosus*, *S. stellatus*, y *S. thurberi*, nativas de México. Debido a los bajos requerimientos de agua y nutrientes pueden crecer en condiciones desfavorables en zonas áridas y semiáridas. La producción de pitaya puede empezar desde abril y terminar en septiembre, de acuerdo con las especies más importantes. El consumo de los frutos es principalmente en fresco; sin embargo, la vida postcosecha es corta por lo que se ha procesado en diversos productos. La presencia de metabolitos secundarios como betalaínas y compuestos fenólicos en los frutos han fomentado el creciente interés en llevar a cabo investigaciones relacionadas con la identificación de dichos compuestos y su bioactividad. En el presente documento se describen el origen y distribución del género *Stenocereus*, las características edafoclimáticas, su propagación, cultivo y cosecha, las características morfológicas y nutricionales del fruto, así como los principales metabolitos secundarios y, los usos y aplicaciones del fruto.

Palabras clave: betalaínas, composición proximal, compuestos fenólicos, época de cosecha, pitaya, vida postcosecha.

Tesis de Doctorado en Ciencias Agroalimentarias, Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo.

Autor: M. C. Leticia García Cruz

Director de tesis: Dr. Salvador Valle Guadarrama

PITAYA: A PHYTOGENETIC RESOURCE WITH A HIGH PRODUCTION POTENTIAL

Abstract

The genus *Stenocereus* is composed of 24 species native to the American continent, growing from the southern United States to Central America. They are columnar cacti known as pitayas, they produce ovoid-globose fruits of showy colors, with deciduous thorns. The species of greatest economic importance due to the value of their fruits are *S. queretaroensis*, *S. pruinosus*, *S. stellatus*, and *S. thurberi*, native to Mexico. Due to their low water and nutrient requirements they can grow under unfavorable conditions in arid and semi-arid zones. Pitaya production can start as early as April and end in September, according to the most important species. The fruits are mainly consumed fresh; however, post-harvest life is short, so they have been processed into various products. The presence of secondary metabolites such as betalains and phenolic compounds in the fruits have fostered the growing interest in carrying out research related to the identification of these compounds and their bioactivity. This paper describes the origin and distribution of the genus *Stenocereus*, the edaphoclimatic characteristics, its propagation, cultivation and harvesting, the morphological and nutritional characteristics of the fruit, as well as the main secondary metabolites, and the uses and applications of the fruit

Key words: betalains, harvest time, pitaya, phenolic compounds, postharvest life, proximate composition.

Thesis of Ph.D. in Ciencias Agroalimentarias, Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo.
Author: M. C. Leticia García Cruz
Thesis Director: Dr. Salvador Valle Guadarrama

2.3 Introducción

El género *Stenocereus* se integra de 24 especies que crecen desde el sur de Estados Unidos hasta América Central (Bravo-Hollis & Sánchez-Mejorada, 1978). Entre ellas, las de mayor importancia comercial son *S. queretaroensis*, *S. pruinosus*, *S. stellatus* y *S. thurberi*, las cuales han favorecido el desarrollo de regiones con climas áridos y semiáridos (Flores-Valdéz, 2003), no obstante que en muchos casos se trata de manejos poco intensivos.

Las zonas áridas ocupan el 41% del área de la superficie terrestre y tienen características generales de escasez persistente de agua, sequías frecuentes, alta variabilidad climática y diversas formas de degradación de la tierra, lo que incluye desertificación y pérdida de biodiversidad (Gaur & Squires, 2018). En tal sentido, el cultivo de cactáceas puede ser una opción para el impulso de la producción agrícola de ese tipo de ecosistemas, ya que son resistentes a sequías y crecen en suelos poco fértiles (Pimienta-Barrios et al., 1997).

Las especies del género *Stenocereus* se caracterizan por tener desarrollo en forma de cactus columnares y producir frutos carnosos de forma globosa u ovoide, con areolas espinosas (Bravo-Hollis & Sánchez-Mejorada, 1978) y pulpa de tonalidad que va desde el blanco hasta el morado, con peso que varía de 85 a 400 g (Luna-Morales, 2006; Luna-Morales et al., 2001; Pimienta-Barrios & Nobel, 1994). La composición química de los frutos incluye altos contenidos de sustancias como compuestos fenólicos y betalaínas (García-Cruz et al., 2017) que generan alto potencial antioxidante (García-Cruz et al., 2013), lo cual favorece la inclusión de estos materiales en la dieta. Asimismo, se ha demostrado que los frutos se pueden aprovechar como fuente de pigmentos naturales (Vargas-Campos et al., 2018; García-Cruz et al., 2021b) que pueden ser usados como ingredientes en la fabricación de productos alimenticios en sustitución de colorantes artificiales. Los frutos son muy perecederos, pues exhiben alta susceptibilidad al ataque fúngico, lo que causa vida de anaquel de pocos días en condiciones naturales (García-Cruz et al., 2016). Al respecto, se ha mostrado que

mediante refrigeración (Rosas-Benítez et al., 2016) y el uso de recubrimientos biopoliméricos (García-Cruz et al., 2021a) es factible el alargamiento de la vida útil en postcosecha. Sin embargo, el estudio de las distintas especies sólo se ha hecho de forma parcial y la información disponible se encuentra dispersa, lo cual constituye una limitante para un aprovechamiento integral. En tal sentido, el objetivo del trabajo fue construir el estado del arte del manejo pre- y postcosecha, de las características composicionales y el uso potencial de frutos de *Stenocereus* spp., para favorecer su desarrollo y el de regiones con características áridas y semiáridas.

2.4 Origen y distribución

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-Hollis & Sánchez-Mejorada, 1978). El género *Stenocereus* comprende 24 especies (Gibson & Horak, 1978), de los cuales 19 se encuentran en México (Bravo-Hollis & Sánchez-Mejorada, 1978). Los orígenes se remontan al Caribe y Norte de Sudamérica, de donde emigraron hacia México, donde evolucionaron en diversas formas en función de las condiciones climatológicas (Bravo-Hollis & Sánchez-Mejorada, 1978) y se les encuentra 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 (Pimienta-Barrios y Nobel, 1994).

2.5 Características climáticas y edáficas de las zonas de cultivo

Las zonas de producción de *Stenocereus* spp. comparten características como el clima, que puede ser árido, semiárido, cálido-subhúmedo y semi-cálido, con transición hacia los climas templados y tropicales. Estas especies suelen crecer entre 400 y 2130 msnm, con temperatura media anual entre 15.8 y 29.1 °C, con precipitación media anual entre 450 y 985 mm y con periodos de sequía de seis

a ocho meses. Sin embargo, en México se tienen regiones como Sonora y Sinaloa, donde estos cactus columnares prosperan en climas áridos con precipitaciones medias anuales tan bajas como 94 mm y periodos de sequía hasta de 12 meses. Las regiones de producción pueden tener topografía muy accidentada, como sierras o lomeríos con pendientes mayores a 30 %, suelos pedregosos y con un alto grado de erosión. Los tipos de suelo en donde se pueden encontrar cultivos de pitaya son el regosol, feozem, cambisol, litosol, luvisol y rendzina (Flores-Valdez, 2002). De acuerdo con Pimienta-Barrios et al. (1997), las plantaciones de *S. queretaroensis* pueden prosperar en suelos profundos, ligeramente ácidos y franco-arenosos, pero pueden crecer cómodamente en suelos pedregosos, infértiles, que no son aptos para cultivos convencionales e incluso con el cultivo de pitaya se ha ayudado a convertir tierras marginales en productivas.

2.6 Propagación y cultivo

Las plantaciones de cactáceas se establecen mediante reproducción asexual (métodos vegetativos), por lo que no hay recombinación genética y el resultado son plantas con la misma información genética que las plantas que les dieron origen. El uso de brazos de 0.5 m de longitud con la parte apical cortada y plantados en posición vertical es la mejor forma de establecer cultivos del género *Stenocereus*, debido a que se genera un mayor número de brotes en comparación a otras formas de plantación (López-Gómez et al., 2000). La práctica común para el establecimiento del cultivo implica el secado de los esquejes por un periodo de 15 a 45 d, para evitar pudriciones en la parte donde se hizo el corte. Por otro lado, la obtención de esquejes para el establecimiento de plantaciones se ha basado en la obtención de plantas madres silvestres, lo cual ha originado deforestación de zonas naturales (Mercado & Granado-Sánchez, 2002). Aunado a esto, es difícil asegurar la calidad de los esquejes de pitaya en cuanto a que estén libres de plagas y enfermedades, por lo que investigadores han probado la germinación de la semilla de pitaya para la reproducción sexual, así como su cultivo in vitro (Martínez-Villegas et al., 2011).

Luna-Morales & Aguirre-Rivera (2001) señalaron que las plantaciones se realizan en estratos donde previamente se coloca abono caprino al fondo. También señalaron que las labores culturales aplicadas al cultivo son pocas, ya que el manejo que se da es aún incipiente y consiste principalmente en la eliminación de maleza, aplicación de abonos una vez al año y podas de sanidad para eliminar tallos desgajados, viejos o enfermos, en tanto que los riegos son prácticamente inexistentes. Asimismo, una vez que se establece la plantación, ésta puede empezar a producir desde el primer año, pero es hasta el tercero o cuarto año cuando se inicia propiamente la producción. Al respecto, aunque los autores informaron de este tipo de manejo en 2001, éste no se ha modificado significativamente en la actualidad.

2.7 Índices de cosecha y manejo postcosecha

A diferencia de otras cactáceas como las tunas y pitahayas, los índices de cosecha de la pitaya aún no se encuentran bien definidos; se basan en el conocimiento empírico de los productores. Al respecto, se han manejado tres criterios principales, uno correspondiente al momento en que las espinas comienzan a desprenderse, otro con el momento en que la cáscara empieza a adquirir un brillo característico, y el tercero basado en el cambio de coloración de la cáscara, lo cual varía en función del cultivar (García-Cruz et al., 2016).

El manejo postcosecha de los frutos de pitaya, en las zonas de producción, es rústico y consiste en colocar los frutos sin desespinar en cajas de madera (huacales) que se apilan y por lo general se almacenan a temperatura ambiente; sin embargo, esto provoca que las espinas perforen el epicarpio de frutos vecinos y por lo tanto se vuelve susceptible a la contaminación, lo cual favorece el desarrollo fúngico y constituye la principal causa de una vida de anaquel corta (Armella et al., 2003). Además, cuando los frutos de pitaya se almacenan a temperatura ambiente presentan disminución del grosor de la cáscara hasta de 55 % a partir del sexto día, lo que puede favorecer la pérdida de peso. La

disminución del grosor de cáscara puede estar asociado a la degradación de la pared celular, debido a la actividad enzimática y al fenómeno de transpiración (García-Cruz et al., 2016), por lo que resulta de gran importancia reforzar la epidermis para evitar desarrollo fúngico, disminuir los daños mecánicos y reducir la pérdida de peso.

Para alargar la vida de anaquel se ha utilizado la refrigeración para disminuir la actividad metabólica y el desespinado para reducir la incidencia de daños mecánicos en frutos de *S. pruinosa*. Debido a que las cactáceas son sensibles al daño por frío se recomienda almacenar los frutos a no menos de 12 °C para evitar dicha patología. En las condiciones mencionadas Rosas-Benítez et al. (2016) consiguieron alargar la vida postcosecha durante 12 d sin desarrollo fúngico, además de que se mantuvieron los atributos de calidad. La evaluación se llevó a cabo durante 21 d de almacenamiento; sin embargo, después de 12 d los valores de firmeza de la cáscara estuvieron por debajo de 1 N, lo que causó que el fruto se tornó frágil para su manejo en fresco.

Por otro lado, se ha evaluado el uso de un recubrimiento a base de quitosano y aceite de neem en frutos de pitaya almacenados en contenedores tipo *clamshells* y refrigeración a 10 °C, encontrando que la vida de anaquel se prolongó a 12 d después de la aplicación del recubrimiento (Shirai et al., 2016). Los autores reportaron que se realizó evaluación sensorial en el día ocho después de la aplicación del recubrimiento y, aunque la apariencia general fue calificada como “me gusta mucho”, la consistencia de pulpa se calificó como “me gusta poco”. El uso de recubrimientos biopoliméricos fue ensayado también por García-Cruz et al. (2021a) a 12 °C con emulsiones a base de 1 % goma guar, 7.5 % cera de abeja, 7.5 % ácido oleico y 1000 ppm de aceite esencial de tomillo, con lo que se retrasó el desarrollo fúngico, se redujo la pérdida de peso y se consiguió apariencia fresca, sin modificación significativa de color, firmeza, sólidos solubles totales, acidez titulable, contenido de fenoles solubles y betalaínas y capacidad antioxidante durante 15 d

2.8 Características morfológicas, físicas y químicas del fruto de *Stenocereus* spp.

2.8.1 Descripción morfológica y física del fruto

Los frutos del género *Stenocereus* son conocidos como pitayas en forma general, pero la identificación de la especie se hace mediante la especificación de la temporada de cosecha o con base en el lugar de origen. Por ejemplo, al fruto de *S. griseus* se le llama comúnmente cardón dato en Venezuela y pitaya en México (Cuadro 1). Los frutos de *Stenocereus* se caracterizan por ser carnosos, con forma es globosa o globosa-ovoide, con pericarpio provisto de areolas lanosas y muy espinosas, las cuales generalmente son caducas (Figura 1, 2, 3) (Bravo-Hollis & Sánchez-Mejorada, 1978). El tamaño de los frutos es muy variable entre las especies e incluso dentro de la misma especie. Las especies *S. thurberi* y *S. griseus* tienen los frutos más pequeños y con mayor homogeneidad (Cuadro 1), en tanto que en *S. pruinosus* y *S. stellatus* se tiene mayor variabilidad. En el caso de *S. pruinosus* se han grado documentar hasta 31 variantes, de las cuales Burra, Iñutun, Lilamorada y Sinsidi tienen el mayor peso reportado, con 398.51, 316.8, 275.5 y 259 g, respectivamente, en tanto que otras variantes de la misma especie han registrado pesos entre 85 y 120 g (Luna-Morales, 2006). En el caso de *S. stellatus* se han documentado nueve variantes, en las que las denominadas Dichi ndoko y Amarilla presentan el mayor peso con 149.5 y 166 g respectivamente, en tanto que las variantes Lunadita, Morada y Gabriel son las más pequeñas con 64.32, 73.71, y 85.91 g respectivamente (Luna-Morales et al., 2001). En lo referente a *S. queretaroensis* se tiene evidencia de cinco variantes: mamey, roja, amarilla, blanca y morada con pesos promedio de 165, 162, 97, 95 y 89 g respectivamente (Pimienta-Barrios & Nobel, 1994). Los frutos de pitaya se caracterizan por tener un alto porcentaje de la fracción comestible, la cual constituye alrededor del 80 % en promedio (Cuadro 1), en comparación con otras cactáceas como la pitahaya (*Hylocereus* sp.) en donde la cáscara representa del 42 al 58 % del peso total del fruto (Tran et al., 2015) o la tuna (*Opuntia*) en donde la fracción no comestible varía del 37 al 51 % (Pimienta-Barrios, 1994). El color

de los frutos de pitaya es muy amplio, siendo las especies *S. pruinosus* y *S. stellatus* las que mayor diversidad presentan, seguidas de *S. queretaroensis*, en tanto que en *S. griseus* sólo tiene documentado tres colores y *S. thurberi* un color (rojo).

Cuadro 1 Principales características de las especies *S. pruinosus*, *S. stellatus*, *S. queretaroensis*, *S. thurberi* y *S. griseus*.

	<i>S. pruinosus</i>	<i>S. stellatus</i>	<i>S. queretaroensis</i>	<i>S. thurberi</i>	<i>S. griseus</i>
Nombre común	Pitaya de mayo	Pitaya de agosto, xoco nochtli	Pitaya de Querétaro	Pitaya dulce	Cardón dato
Forma	Globosa-ovoide	Globosa	Globosa-ovoide	Globosa	Globosa
Peso del fruto (g)	85.91-398.51	64-149.2	60-160	64.97	40-68.7
% cáscara	12.6-28.7	17.6-24	18-24		18-32.4
Sabor	Dulce	Agridulce	Dulce	Dulce	Dulce
Color	Blanco, rosa, amarillo, naranja, rojo y morado	Blanco, rosa, amarillo, naranja, rojo y morado	Blanco, amarillo, rojo, rojo oscuro y morado	Rojo	Blanco, naranja, rojo
Época de cosecha	Abril-mayo	Agosto-septiembre	Abril-junio	Junio-agosto	Mayo-septiembre
Fuente	García-Cruz et al. (2013); Luna-Morales (2006); Martínez-González & Cruz-Hernández (1995)	Casas et al. (1997); Luna-Morales et al. (2001)	Pimienta-barrios et al. (1997); Pimienta-Barrios & Nobel (1994)	Bravo-Hollis & Sánchez-Mejorada (1978); Castro-Enriquez et al. (2020)	Emaldi et al. (2004, 2006).



Figura 1. Variantes de pitaya de mayo (*Stenocereus pruinosus*).



Figura 2. Variantes roja y naranja de pitaya de Querétaro (*Stenocereus queretaroensis*).



Figura 3. Variantes de pitaya de agosto (*Stenocereus stellatus*).

En la Figura 1 se pueden observar algunas de las variantes de *Stenocereus pruinosus*, en donde se puede notar las diferentes formas y tamaños de los frutos.

Se presentan frutos con espinas, sin espinas y la pulpa, ésta última de diversos colores, en donde el que más abunda es el rojo en distintas tonalidades. Por otro lado, en la Figura 2 se muestran los frutos desespinados de dos variantes de *S. queretaroensis*, una de las principales características de éstos frutos es su dehiscencia, misma que reduce su vida de anaquel. Los frutos maduros de *S. stellatus*, a diferencia de las otras dos especies mencionadas antes, conservan parte de la flor (androceo, gineceo y perianto), la cual se seca y da la apariencia de ser el pedúnculo (Figura 3).

2.8.2 Composición proximal y análisis químico de la pulpa de pitaya

Las especies que han sido más estudiadas en términos de composición proximal son *S. pruinosus*, *S. stellatus* y *S. griseus*. El contenido de agua, carbohidratos, proteínas y cenizas es similar en las tres especies (Cuadro 2). Sin embargo, *S. stellatus* tiene de tres a cuatro veces más extracto etéreo que las otras dos especies, mientras que *S. griseus* sobresale en el contenido de fibra cruda, ya que se han registrado contenidos de hasta 7.1 %. El contenido de humedad y carbohidratos de los frutos de pitaya es similar al de otras cactáceas como tuna (*Opuntia*) y pitahaya (*Hylocereus*) (Moreno-Álvarez et al., 2008; Nurul & Asmah, 2014; Sonawane, 2017); sin embargo, en frutos de *Opuntia matudae* se han reportado contenidos de humedad superiores al 91 % (López-Martínez et al., 2015), mientras que en frutos de *Mammillaria uncinata* el contenido de humedad sólo llega al 83 % (Aparicio-Fernández et al., 2013). En lo referente al contenido de carbohidratos, los frutos de *Mammillaria uncinata* y *Opuntia matudae* presentan menor contenido respecto a los frutos de pitaya, ya que su contenido oscila de 5.08 a 7.25 % (Aparicio-Fernández et al., 2013; López-Martínez et al., 2015). Respecto al contenido de proteínas, los frutos de pitaya presentan valores superiores a los reportados en cactáceas como *Mammillaria uncinata* (0.95 %), *Opuntia joconostle* (0.6-0.87 %), *Opuntia matudae* (0.16-0.39 %), *Opuntia duranguensis* (0.17-0.34 %), *Opuntia elatior* (0.83 %); no obstante, el contenido de proteína de los frutos de pitaya es similar a lo reportado en *Hylocereus* (1.1-1.45 %) (Aparicio-Fernández et al., 2013; Hernández-Fuentes et al., 2015; López-

Martínez et al., 2015; Moreno-Álvarez et al., 2008; Nurul & Asmah, 2014; Sonawane, 2017). El fruto de pitaya también tiene mayor contenido de fibra cruda que la tuna (*Opuntia* sp) (Sawaya et al., 1983) y en el caso específico de *S. griseus* tiene mayor contenido de fibra cruda que la pitahaya (2.65-3 %) (Nurul & Asmah, 2014; Sonawane, 2017) y *Opuntia matudae* (0.53-1.04 %) . Respecto al contenido de extracto etéreo, el contenido en frutos de pitaya es similar a lo reportado en tuna (0.12 %) (Sawaya et al., 1983) y xoconostle (0.09-0.32) (López-Martínez et al., 2015). Los frutos de pitaya tienen el mayor contenido de cenizas dentro de la familia de las cactáceas, sólo superados por xoconostle (0.67-1.38 %) (López-Martínez et al., 2015) y *Mammillaria* (1.23 %) (Aparicio-Fernández et al., 2013), en tanto que tuna (0.31-0.44 %) y pitahaya (0.54) se han reportado contenidos ligeramente inferiores (Moreno-Álvarez et al., 2008; Nurul & Asmah, 2014; Sawaya et al., 1983).

García-Cruz et al. (2013) reportaron el contenido mineral en dos variantes de la especie *S. pruinosus*, en donde encontraron minerales como fósforo (3.4 y 3.6 mg kg⁻¹), potasio (1.1 y 1.2 mg kg⁻¹), calcio (0.9 y 0.95 mg kg⁻¹), magnesio (2.15 y 2.35 mg kg⁻¹), hierro (22.8 y 27.9 mg kg⁻¹), cobre (9.67 y 14.31 mg kg⁻¹), zinc (7.04 y 8.77 mg kg⁻¹) y manganeso (4.34 y 4.61 mg kg⁻¹), de los cuales hierro, cobre y zinc fueron los más abundantes. En algunas especies de otras cactáceas como tuna y pitahaya se han reportado contenidos minerales por arriba de lo encontrado en pitaya; sin embargo, los minerales que sobresalen son calcio, magnesio, potasio y fósforo (Mohd Adzim Khalili, Norhayati et al., 2006; Nurul & Asmah, 2014; Sawaya et al., 1983). Por otro lado, el contenido de hierro, fósforo, cobre y zinc de pitaya es superior a lo reportado en *Myrtillocactus* (Guzmán-Maldonado et al., 2010), *O. dillenii* y *O. ficus indica* (Díaz-Medina et al., 2007).

Los frutos de pitaya de *S. pruinosus*, *S. stellatus*, *S. queretaroensis*, *S. thurberi* y *S. griseus* tienen niveles similares de sólidos solubles totales (SST). El material de *S. pruinosus* tiene mayor variabilidad de SST, debido a que es la especie con mayor número de variantes. Entre ellas, Licui, Sinsidi, Tsindudo y Reina

presentan los valores de SST más elevados, con 17.5, 14, 14 y 13.7 °Brix respectivamente (Luna-Morales, 2006), en tanto que en la variante roja se han reportado los valores más bajos (9.3 y 10.2 °Brix) (Balderas et al., 2016). En comparación con frutos de joconostle (*Opuntia* spp.) los frutos de pitaya tienen el doble de SST (Hernández-Fuentes et al., 2015) y respecto a pitahaya (7.5 a 9.97 °Brix) (de Lima et al., 2013; Moreira-Santos et al., 2020) y tuna (8.3 a 8.7 Brix) (Panda et al., 2017; Terán et al., 2015) el contenido de STT en *Stenocereus* es ligeramente superior. En *Selenicereus megalanthus* (pitahaya amarilla) se reportan contenidos de SST superiores (14.24-17.3 °Brix) a la mayoría de las especies de *Stenocereus* (Cañar-Sena et al., 2014; de Lima et al., 2013). Por otro lado, en frutos de *Cereus peruvianus* se han encontrado valores similares (Sitrit et al., 2012).

La acidez titulable (AT) de los frutos del género *Stenocereus* es muy variable. *S. griseus* es la especie con menor AT, *S. thurberi* y *S. pruinosus* presentan valores similares, en tanto que *S. stellatus* y *S. queretaroensis* son las especies con mayor valor en esta variable. Cervantes-Arista et al. (2020) cuantificaron ácidos orgánicos como el ácido málico y cítrico en las variantes blanca, roja, morada y naranja de *S. stellatus*. Con excepción de *S. stellatus*, el contenido de acidez titulable es similar a lo reportado en otras cactáceas como *Hylocereus undatus* y *Selenicereus megalanthus* (de Lima et al., 2013). Con base en los valores promedio, la relación SST/AT de *S. pruinosus*, *S. stellatus*, *S. queretaroensis*, y *S. griseus*, es de 88.5, 17.7, 33.4 y 100.7, respectivamente, por lo que *S. griseus* y *S. pruinosus* son percibidas como más dulces que *S. stellatus* y *S. queretaroensis*. A este respecto, se han reportado valores superiores de acidez en *Hylocereus* (0.33 %) (Moreira-Santos et al., 2020), por lo que la relación SST/AT de este material es menor y ello causa una menor percepción de dulzor.

Con base en el pH, los frutos de pitaya pueden ser clasificados como de baja acidez, ya que en la mayoría de especies su pH es superior a 4.5 (Chuck-Hernández et al., 2015). Sin embargo, algunas variantes de *S. stellatus* y *S.*

queretaroensis tienen valores inferiores (Cuadro 2), los cuales se asemejan al pH del joconostle (3.54) (Hernández-Fuentes et al., 2015), *Cereus peruvianus* (3.7) (Sitrit et al., 2012) y al de garambullo (3.9) (Guzmán-Maldonado et al., 2010). El resto de las especies de *Stenocereus* tienen valores de pH similares, los cuales se asemejan a lo reportado en *Hylocereus* y *Selenicereus* (Chik et al., 2011; de Lima et al., 2013). No obstante, el pH de frutos de pitaya se encuentra por debajo de lo encontrado en tuna (5.9-6.3) (Panda et al., 2017; Terán et al., 2015).

El contenido de vitamina C sólo ha sido reportado en tres especies de *Stenocereus* y puede cambiar drásticamente de una variante a otra. Emaldi et al. (2006) encontraron que en la variante roja de *S. griseus* se tienen 12.04 mg de vitamina C por cada 100 g de muestra fresca, mientras que en la variante blanca sólo se presentaron 0.17 mg 100 g⁻¹. El contenido de vitamina C de la variante roja de *S. griseus* es similar al de la variante roja de *S. pruinosus*. Por su parte, en *S. stellatus* se ha encontrado el mayor contenido de vitamina C (36.54-57.54 mg 100 g⁻¹ base húmeda) del género *Stenocereus*, el cual incluso es mayor que lo reportado en algunos cítricos como naranja, mandarina, limón y lima (Nagy, 1980). Comparando con otras cactáceas, los frutos de pitaya tienen mayor contenido de vitamina C que el garambullo (Guzmán-Maldonado et al., 2010) y xoconostle (Arias-Rico et al., 2020).

El contenido de azúcares totales en frutos de las especies *Stenocereus* revisadas es similar, con la excepción de *S. griseus*, en donde es menos de la mitad que el resto de las especies (Cuadro 2). Del total de azúcares presentes en los frutos, los reductores se encuentran en mayor proporción que los no-reductores. Cervantes-Arista et al. (2020) reportaron concentraciones de poco más del doble de fructosa respecto a glucosa en cuatro variantes de *S. stellatus*, en tanto que en frutos de tuna, se ha encontrado mayor proporción de glucosa respecto a fructosa (El Kossori et al., 1998).

Cuadro 2. Composición proximal y características químicas de las especies de *Stenocereus* de mayor importancia económica.

Componente	<i>S. pruinosus</i>	<i>S. stellatus</i>	<i>S. queretaroensis</i>	<i>S. thurberi</i>	<i>S. griseus</i>
Análisis proximal					
Agua (%)	87-89	85.39-87.26		86.41	81-85
Carbohidratos (%)	8.5-10	9.82-10.85			9.05
Proteína (%)	1.2-1.3	1.08-1.30	1.0		1.29
Extracto etéreo (%)	0.10-0.12	0.39-0.49			0.12
Fibra cruda (%)	0.53-0.67	1.39-1.63			3.51-7.1
Cenizas (%)	0.61-0.63	0.48-0.58			0.64-0.81
Análisis químico					
Sólidos solubles totales (°Brix)	9.3-17.25	9.0-11.0	10.7		11.17-12
pH	5.0-5.5	3.37-4.5	3.9-5	5.46	5.2
Acidez titulable (% de ácido málico)	0.13-0.17	0.25-0.88	0.14-0.5	0.22	0.08-0.15 ⁺
Vitamina C (mg 100 g ⁻¹)	7.78	261-411*			0.17-12.04
Azúcares totales (g 100 g ⁻¹)	11.1	12.58-15.95	10-11		4.62
Azúcares reductores (g 100 g ⁻¹)	7.6-9.3	9.56-11.16	5.6		2.23-3.59
Azúcares no reductores (g 100 g ⁻¹)	1.0	2.44-4.76	3.4		0.75-2.03
Fuente	Balderas et al. (2016); García-Cruz et al. (2013); Luna-Morales (2006)	Cervantes-Arista et al. (2020); Granado-Sánchez et al. (1999); Pérez-Loredo, et al. (2016)	Pimienta-Barrios (1995); Pimienta-barrios et al. (1997)	Castro-Enriquez et al. (2020)	Emaldi et al. (2006, 2004).

*Base seca. ⁺Expresado como mg de ácido cítrico.

2.9 Betalaínas en frutos de *Stenocereus* spp.

Durante años, la principal y mayor fuente de betalaínas ha sido el betabel (Albuquerque et al., 2020). Sin embargo, en las últimas décadas se han detectado importantes concentraciones de estos compuesto en frutos de cactáceas como pitahaya (*Hylocereus* spp.) (Esquivel et al., 2007), tunas (*Opuntia* spp.) (García-Cayuela et al., 2019) y garambullo (*Myrtillocactus* spp.) (Guzmán-Maldonado et al., 2010). Las betalaínas son compuestos hidrosolubles en los que la estructura principal es el ácido betalámico, el cual cuando se une a una estructura cyclo-Dopa forma a las betacianinas (compuestos de color púrpura), mientras que cuando se une a una amina primaria o secundaria forma a las betaxantinas (compuestos de color amarillo) (Stintzing & Carle, 2007). La diversidad de colores que presenten los frutos es dada por la proporción en que se combinan las betacianinas y betaxantinas, de tal forma que el color puede ir desde el amarillo hasta el morado pasando por el naranja y diferentes tonalidades de rojo (Gandía-Herrero et al., 2013).

En frutos de *Stenocereus* spp. el reporte del contenido de betalaínas ha sido escaso, no obstante, se han encontrado concentraciones notables de dichos pigmentos. Se ha visto que la concentración de betalaínas en frutos de *S. stellatus* puede variar de aproximadamente 270 a 460 mg de betalaínas totales por cada 100 g de muestra seca, dependiendo del tipo de técnica de extracción que se utilice, en donde el uso de ultrasonido permitió extraer la mayor cantidad de pigmentos (Pérez-Loredo et al., 2017).

A pesar de que existen muchas variantes en *S. pruinosus* (Figura 1), existen pocos estudios sobre el contenido de betalaínas y la mayoría se ha centrado en las variantes roja y naranja. La especie en la que se han estudiado más variantes es en *S. stellatus*, en tanto que en el resto de especies sólo se han estudiado una o dos variantes (Cuadro 3). La mayor concentración de betalaínas se ha encontrado en las especies *S. pruinosus* y *S. queretaroensis* (Cuadro 3).

Los primeros estudios de identificación de betalaínas en la especie *S. pruinosus* en las variantes roja y naranja, encontraron la presencia de tres betacianinas y dos betaxantinas (García-Cruz et al., 2013); no obstante, ya se han logrado identificar nueve betacianinas en las especies *S. pruinosus* y *S. stellatus*, las cuales corresponden a gonfrenina I, isogonfrenina I, 2-descarboxi-betanina, filocactina, 4'-O-malonil-betanina, isofilocactina, 6'-O-malonil-2-descarboxi-betanina, 6'-O-malonil-2-descarboxi-isobetanina y un derivado de betanidina, y 2 betaxantinas: indicaxantina e isoindicaxantina (García-Cruz et al., 2017). En la especie *S. griseus* se ha identificado solo la presencia de betacianinas, las cuales corresponden a betanina, isobetanina, betanidina, 17-descarboxi-neobetanina, isobetanidina, neobetanina, 2-descarboxi-neobetanina (Cejudo-Bastante et al., 2020).

Cuadro 3. Contenido de betalaínas en frutos *Stenocereus* spp.

Especie	Variante	Betacianinas ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ m.s.)	Betaxantinas ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ m.s.)	Fuente
<i>S. stellatus</i>	Amarilla	135.2	928.7	Pérez-Loredo et al. (2016)
	Roja	1457.2	1511.3	
	Púrpura	538.3	277.8	
	Roja	2525.82	21681.66	García-Cruz et al. (2017)
<i>S. pruinosus</i>	Roja	5423.38	17706.72	García-Cruz et al. (2017)
	Naranja	162.07	22053.46	
<i>S. queretaroensis</i>	Roja	20102	2888	Soto-Castro et al. (2019)
<i>S. thurberi</i>	Roja	1170	1370	Castro-Enríquez et al. (2020)
<i>S. griseus</i>	Roja	2372.54	----	Cejudo-Bastante et al. (2020)

m. s.: muestra seca.

2.10 Compuestos fenólicos en frutos de *Stenocereus* spp.

Los compuestos fenólicos son de los metabolitos secundarios más abundantes en la mayoría de frutos y comprenden una amplia gama de sustancias formadas por un anillo aromático que lleva uno o más sustituyentes hidroxilo. Sin embargo, el número de átomos de carbono en la estructura varía de acuerdo a la clase de fenoles. Los fenoles son considerados compuestos muy importantes ya que pueden prevenir distintas enfermedades relacionadas al estrés oxidativo (Macheix et al., 2018).

Cuadro 4. Contenido de fenoles solubles totales en la pulpa de frutos de *Stenocereus* spp.

Especie	Variante	Fenoles solubles (mg EAG 100 g ⁻¹ m. s.)	Fuente
<i>S. stellatus</i>	Roja	1384.3	Beltrán-Orozco et al. (2009)
	Cereza	1552.2	
	Amarilla	2129.1	
	Blanca	2395.3	
	Roja	300-700	Pérez-Loredo et al. (2015); Pérez-Loredo et al. (2017)
	Amarilla	370	
	Morada	580	
	Blanca	14	García-Cruz et al. (2017)
	Roja	12.2	
	Blanca	18	Cervantes-Arista et al. (2020)
	Roja	30	
	Púrpura	16	
	Naranja	15	
<i>S. thurberi</i>	Roja	1389-2070	Castro-Enriquez, et al. (2020)
<i>S. pruinosus</i>	Roja	7.56	García-Cruz et al. (2017)
	Naranja	5.30	

mg EAG: equivalentes de ácido gálico; m.s.: muestra seca.

En *S. thurberi* se ha encontrado mayor variedad de ácidos fenólicos, tales como ácido ferúlico, gálico, cafeico, p-cumárico y cafeoilquínico (Cejudo-Bastante et al., 2020). En esta especie, junto con *S. stellatus* y *S. pruinosus* (Cuadro 4), también se ha reportado la presencia de compuestos fenólicos del tipo de los flavonoles como quercetina, catequina, Isorhamnetina y kaemferol (Cejudo-Bastante et al., 2020; García-Cruz et al., 2017), en tanto que sólo en la especie *S. stellatus* se han identificado compuestos fenólicos del tipo de las flavanonas como eriodictiol y naringenina (García-Cruz et al., 2017).

No sólo en la pulpa de los frutos de *Stenocereus* se han identificado compuestos de interés biológico. A este respecto, Soto-Cabrera et al. (2016) han cuantificado flavonoides de las ramas de *S. stellatus*, mientras que Imai et al. (2006) y Djerassi et al. (1955) han identificado lactonas triterpenoides. Por otro lado, en las ramas de *S. pruinosus* se ha detectado la presencia de grupos funcionales de oxidrilos fenólicos, esteroides y metilesteroides, cumarinas, alcaloides, sesquiterpenlactonas y saponinas (Treviño et al., 2012).

2.11 Capacidad antioxidante

Los frutos de pitaya tienen un alto contenido de compuestos antioxidantes, como el ácido ascórbico, fenoles como ácidos fenólicos y flavonoles, y betalaínas (Cuadros 2, 3 y 4), los cuales son los responsables de la capacidad antioxidante de dichos frutos, ya que son capaces de ceder un electrón o un átomo de hidrógeno para estabilizar compuestos oxidantes como los radicales ABTS⁺ (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina 6-ácido sulfónico)) y DMPD⁺ (N-N-dimetil-p-fenilenediamina) (Beltrán-Orozco et al., 2009; García-Cruz et al., 2013). En este sentido, Beltrán-Orozco et al. (2009) determinaron la capacidad antioxidante de frutos de *S. stellatus* utilizando el radical DMPD⁺, encontraron que la capacidad antioxidante varió de 11-17.3 mmol de equivalentes de Trolox (ET) por gramo de muestra, además de que se observó alta correlación con el contenido de fenoles y ácido ascórbico. Sin embargo éste último sólo contribuye con el 4-6 % del total de la capacidad antioxidante. Dada la alta capacidad antioxidante de los

extractos, dichos autores comparan la pitaya con frutos del género *Vaccinium*, los cuales son considerados como los de mayor capacidad antioxidante. En la misma especie, también se ha encontrado que utilizando el radical ABTS⁺, la capacidad antioxidante osciló de 57.2 a 128.69 μmol de equivalentes de Trolox por gramo de muestra seca, lo cual ha sido superior a lo reportado en cactáceas como *Hylocereus*, *Opuntia* e incluso *S. griseus* (Pérez-Loredo et al., 2016). Cervantes-Arista et al. (2020) encontraron que la capacidad antioxidante de extractos de *S. stellatus* se correlaciona principalmente con el contenido total de fenoles, seguido de flavonoides y betalaínas, con coeficientes de correlación de 0.6, 0.4 y 0.4, respectivamente. Por su parte, García-Cruz et al. (2013) determinaron la capacidad antioxidante de extractos de *S. pruinosus* en las variantes roja y naranja por los métodos de ABTS y ORAC. Al respecto, los resultados de ambos métodos mostraron que la variante roja tuvo la mayor capacidad antioxidante respecto a la variante naranja. En otro estudio, García-Cruz et al. (2017) encontraron que tanto la presencia de betalaínas como de compuestos fenólicos ejercen un sinergismo sobre la capacidad antioxidante de los extractos de pitaya; sin embargo, los compuestos fenólicos presentes en las pitayas no mostraron correlación significativa con la capacidad antioxidante, ya que una de las muestras carecía de pigmentos, pero fue de las que mayor concentración de compuestos fenólicos se encontró; no obstante, la capacidad antioxidante de ese material fue de 1.5 a tres veces menor respecto a las muestras que sí contenían betalaínas.

La capacidad antioxidante de extractos de *S. thurberi* se ha determinado utilizando los radicales ABTS⁺ y DPPH, con valores de 17.6 y 10.7 mM ET g⁻¹ de muestra seca respectivamente. En adición, se ha observado que la capacidad antioxidante se incrementa después de clarificar los extractos, lo cual pudiera ser debido a compuestos prooxidantes que pudieran estar presentes, los cuales evitan la reducción de los radicales (Castro-Enriquez et al., 2020).

2.12 Usos y aplicaciones

2.12.1 Industria alimentaria

Los frutos de pitaya pueden ser procesados para la elaboración de mermelada y jalea (Piña, 1977), bebidas refrescantes y alcohólicas (Bravo-Hollis & Sánchez-Mejorada, 1991; Luna-Morales & Aguirre-Rivera, 2001), helados (Campos-Rojas et al., 2011), paletas (Luna-Morales & Aguirre-Rivera, 2001), gelatinas, jarabes, conservas, ates y concentrados de pitaya (Santacruz-Vázquez et al., 2009). Las investigaciones recientes se han enfocado en la obtención de jugo de pitaya y en las tecnologías para su conservación. Ochoa-Velasco & Guerrero-Beltrán (2012) probaron luz ultravioleta-C a una intensidad de $57 \mu\text{W cm}^{-2}$ en diferentes tiempos de exposición y velocidades de flujo, con lo que encontraron que a mayor tiempo de exposición y velocidad de flujo el contenido de bacterias mesófilas aerobias, mohos y levaduras disminuyó, en tanto que las características físicas y químicas del jugo se mantuvieron sin cambios significativos, por lo que ese tipo de tratamiento podría ser una alternativa para mantener la calidad microbiológica del jugo de pitaya. Por otro lado, Ochoa-Velasco & Guerrero Beltrán (2013) observaron que el uso de luz ultravioleta-C a una intensidad de $57 \mu\text{W cm}^{-2}$, velocidad de flujo de 30.3 mL s^{-1} y 30 min de exposición combinado con refrigeración a 4°C mantiene la calidad microbiológica de jugos de pitaya inoculados con *Zygosaccharomyces bailii* hasta por 10 d. El uso de tecnologías emergentes tales como altas presiones hidrostáticas, se ha utilizado para reducir la actividad enzimática responsable del deterioro de jugo de pitaya. Los resultados han mostrado que el contenido de betalaínas no se vio afectado por los tratamientos, el contenido de fenoles se mantuvo en un 86 %, mientras que el de vitamina C se incrementó un 133 %, pero solo se logró un decremento de 21 % de actividad de pectinmetilesterasa (Sandate-Flores et al., 2017). Ésta misma tecnología se ha utilizado con éxito para reducir en más de 5-log_{10} la población de *Listeria innocua* y la inactivación de *Saccharomyces cerevisiae* hasta niveles no detectables en jugos de pitaya de mayo (Quiroz-González et al., 2018, 2019). Asimismo, se ha observado un comportamiento sinérgico al

combinar altas presiones hidrostáticas y tratamientos con ozono, ya que ello permite reducir los niveles de presión y ozonización utilizados en los tratamientos, obteniendo así jugos inocuos con mayor aceptabilidad sensorial (García-Mateos et al., 2019).

Otro método de conservación del jugo de pitaya es el encapsulado. Al respecto, Rodríguez-Sánchez et al. (2017a) probaron que la encapsulación con alginato de sodio y cloruro de calcio es un método adecuado para preservar el jugo de pitaya en condiciones controladas, ya que la estabilidad de las cápsulas se mantiene por más de 20 d.

En la industria alimentaria el uso de aditivos alimentarios como colorantes es de gran interés, debido a que aumentan el atractivo de los alimentos a los consumidores (Albuquerque et al., 2020). Sin embargo, actualmente se tienen tendencias a consumir alimentos más naturales ya se diversos estudios apuntan a que los colorantes sintéticos son perjudiciales a la salud (Abo-El-Sooud et al., 2018). Por esta razón, el uso de betalaínas como colorante alimenticio ha estado ganando terreno (Choo, 2018). Los frutos de pitaya, por su alto contenido de betalaínas, han demostrado que se pueden utilizar como pigmentos en algunos alimentos (Vargas-Campos et al., 2018; Cejudo-Bastante et al., 2020) así como en la industria farmacéutica (García-Lucas et al., 2017). También se ha mostrado que la encapsulación de jugo de pitaya o extractos de betalaínas provenientes de pitayas pueden ser usados como una estrategia para aprovechar el potencial pigmentante de las betalaínas. A este respecto García-Lucas et al. (2017) han encontrado que a 150 °C de temperatura de secado se obtienen rendimientos de encapsulado de 59 %, además de que se mantiene la coloración típica del jugo de frutos de *S. griseus*. Por su parte, Soto-Castro et al. (2019) trabajaron en el encapsulado de betalaínas de la pulpa y cáscara de *S. queretaroensis* utilizando mucílago de nopal como material encapsulante y encontraron que de la cáscara se puede recuperar 87 % de betalaínas respecto a las de la pulpa, por lo que la cáscara también podría emplearse como fuente de pigmentos. En adición, los

autores observaron que el color de las cápsulas se mantuvo durante de 90 d de almacenamiento al ser re-suspendidas. Por otro lado, se ha probado el uso de betaxantinas provenientes de *S. pruinosus* para dar color a gomitas de gelatina y una bebida, utilizando pulpa o jugo. Los investigadores hallaron que con 4.6 % de jugo o pulpa en la formulación de gomitas de gelatina se obtuvo una concentración de betaxantinas en el producto de $2.71 \pm 0.13 \mu\text{g g}^{-1}$ y $2.94 \pm 0.05 \mu\text{g g}^{-1}$ respectivamente, mientras que para elaborar la bebida, 5 % de jugo fue suficiente para obtener una concentración de $7.05 \pm 0.01 \mu\text{g mL}^{-1}$. Respecto a la retención de color en las gomitas de gelatina, los productos perdieron el 50 % de betaxantinas después de 11 d de almacenamiento a 40 °C. en cuanto a la bebida, ésta perdió un porcentaje similar al de las gomitas de gelatina, en 14 días de almacenamiento a 4 °C (Rodríguez-Sánchez et al., 2017b). El uso de betalainas de fruto de *S. pruinosus* como colorante alimenticio ha sido empleado con éxito en la pigmentación de yogur, ya que al ser encapsulados los pigmentos en almidón de papa succinatado se obtuvo estabilidad durante 32 d de almacenamiento a 4 °C (Vargas-Campos et al., 2018).

2.12.2 Medicinal

El uso de especies de *Stenocereus* no se limita sólo al consumo de los frutos en fresco o procesados, sino que otras partes de la planta son utilizadas en la medicina tradicional mexicana. A este respecto, las partes aéreas de *S. gummosus* han sido empleadas para tratar mordeduras de serpientes venenosas, eliminación de parásitos, regulación de la presión sanguínea y para controlar el colesterol, en tanto que las flores y partes aéreas de *S. thurberik* son utilizadas para tratar picaduras de abeja, mordeduras de serpiente, heridas, presión sanguínea, úlceras, cáncer y problemas del corazón (Encarnación Dimayuga et al., 1998). Por otro lado, las raíces de *S. stellatus* han sido útiles en el tratamiento de desórdenes gastrointestinales como la disentería (Hernández et al., 2003), en tanto que las partes aéreas de *S. marginatus* se han usado como tratamiento contra la diabetes (Romero-Cerecero et al., 2009). Asimismo, un estudio demostró que los extractos metanólicos de *S. marginatus* inhiben el

crecimiento de *Helicobacter pylori*. La actividad antimicrobiana de los extractos fue atribuida a metabolitos secundarios como flavonas, lactonas de sesquiterpenos y alcaloides (Moreno-Limón et al., 2015). También se ha observado que los extractos metanólicos de *S. pruinus* presentan actividad antifúngica frente a hongos dermatofitos como *Microsporum canis*, *M. gypseum*, *M. cookei* y *M. nanum* (Treviño et al., 2012).

Un estudio reciente ha probado el efecto hiperglucémico de la pulpa liofilizada de los frutos de *S. stellatus* en ratones, donde se encontró que las variantes roja y naranja mostraron efectos significativos respecto al control al bajar la concentración de glucosa en sangre y, con una dosis de 100 mg kg⁻¹, se mantuvo el efecto antihiperglucémico hasta por 60 min, lo cual fue comparable al efecto de la metformina, un fármaco que se usa con frecuencia para el tratamiento de la diabetes (Cervantes-Arista et al., 2020). Por otro lado Gaytán-Andrade et al. (2020) probaron que la digestibilidad oral, gástrica e intestinal de un extracto de pitaya (*S. queretaroensis*) estuvo en un intervalo entre 70 y 90 %, además, determinaron el efecto prebiótico del extracto sobre el crecimiento de bacterias como *B. coagulans*, *L. sporogenes* y *L. delbrueckii*, encontrando que hubo un mayor crecimiento bacteriano en el medio enriquecido con el extracto de pitaya respecto al testigo.

Ensayos *in vitro* mostraron que el 2 % (p/p) de jugo de pitaya disminuye la viabilidad celular de líneas cancerígenas de cáncer de hígado y fibroblastos; en los cuales la variante amarilla tuvo mayor efecto en la línea celular del cáncer de hígado, en tanto que la variante roja tuvo mayor efecto en la línea celular de fibroblastos (40 y 60 % respectivamente) (Martínez et al., 2021).

Fujihara et al. (2021) evaluaron el efecto de saponinas extraídas de las ramas de *S. pruinus* sobre la inhibición de amyloid β (A β), el cual es un compuesto relacionado con el Alzheimer, ya que en la aparición de dicha enfermedad se involucran varios pasos clave, como la producción de A β , agregación de A β y muerte de las células neuronales. Los autores encontraron que una de las

saponinas exhibió actividad inhibidora relacionada con la agregación de A β , y su grado de agregación fue de 40.6 %.

2.12.3 Otros usos

Lira et al. (2009) mencionaron que las ramas de *S. stellatus* pueden utilizarse como forrajes, cercas vivas, leña y como material para construcción. Respecto al uso como forrajes, Margarito et al. (2019) probaron que se pueden elaborar bloques multinutricionales como alternativa alimenticia de rumiantes de zonas áridas, utilizando frutos de pitaya como sustituto de melaza de caña de azúcar.

Asimismo, se ha demostrado la efectividad de un extracto de *S. griseus* como coagulante para la purificación de agua, de donde se derivó que dicho extracto puede usarse como coagulante primario en plantas de tratamientos de aguas potables, ya que se removieron hasta un 70 % de las impurezas (Fuentes et al., 2011).

2.13 Conclusiones

El género *Stenocereus* es representado principalmente por cinco especies que se cultivan de manera comercial (*S. queretaroensis*, *S. pruinosus*, *S. stellatus*, *S. griseus* y *S. thurberi*), las cuales tienen potencial de establecimiento en regiones áridas y semiáridas de todo el mundo. Al ser una cactácea, los requerimientos hídricos respecto a otros cultivos son menores, pues soportan largos periodos de sequía, son capaces de crecer en suelos poco fértiles y las labores culturales que se le practican son mínimos. En países como México se tiene gran variedad de fenotipos de las especies *S. pruinosus*, *S. stellatus* y *S. queretaroensis*; sin embargo, los materiales no se han aprovechado adecuadamente debido a la falta investigación respecto a la fisiología del cultivo, producción y manejo postcosecha de los frutos; además del contenido de fitoquímicos en las variantes diferentes a la roja y naranja.

La pitaya es considerada una fruta exótica, la cual se comercializa principalmente en fresco, pero debido a la alta perecibilidad de los frutos, se han buscado alternativas para su procesamiento, como jugos y concentrados del fruto. Dada la alta concentración de betalaínas, tanto el fruto como la cáscara tienen alto potencial para la extracción de pigmentos para su uso como aditivo alimentario y, debido a la presencia de metabolitos secundarios como betalaínas y diversas clases de compuestos fenólicos, los frutos presentan alta bioactividad.

2.14 Literatura citada

- Abo-El-Sooud, K., Hashem, M. M., Badr, Y. A., Eleiwa, M. M. E., & Gab-allaha, A. Q. (2018). Assessment of hepato-renal damage and genotoxicity induced by long-term exposure to five permitted food additives in rats. *Enviromental Science and Pollution Research*, 25, 26341–26350. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2665-z>
- Albuquerque, B. R., Oliveira, M. B. P. P., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2020). Could fruits be a reliable source of food colorants? Pros and cons of these natural additives. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 0(0), 1–31. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1746904>
- Aparicio-Fernández, X., Loza-Cornejo, S., Torres-Bernal, M. G., & Velázquez-Placencia, N. de J. (2013). Chemical and morphological characterization of *Mammillaria uncinata* (Cactaceae) fruits. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 15, 32–41.
- Arias-Rico, J., Cruz-Cansino, N. del S., Cámara-Hurtado, M., López-Froilán, R., Pérez-Rodríguez, M. L., Sánchez-Mata, M. de C., Jaramillo-Morales, O. A., Barrera-Gálvez, R., & Ramírez-Moreno, E. (2020). Study of xoconostle (*Opuntia* spp.) powder as source of dietary fiber and antioxidants. *Foods*, 9, 403. <https://doi.org/10.3390/foods9040403>
- Armella, M. A., Yáñez-López, L., Soriano, J. S., & Ramírez, G. R. (2003). Phenology, postharvest physiology and marketing of pitaya (*Stenocereus griseus*, L.) as a sustainable resource. *Acta Horticulturae*, 598, 251–254. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2003.598.37>

- Balderas, V., Palafox, L., Castro, A., & Saucedo, C. (2016). Evaluación de las propiedades físicas y calidad organoléptica y nutricional de frutos de pitaya (*Stenocereus pruinosus*). *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 3(7), 86–92.
- 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(2), 153–162. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952009000200007
- Bravo-Hollis, H., & Sánchez-Mejorada, H. (1978). *Las cactáceas de México* (2nd ed.). Universidad Nacional Autónoma de México.
- Bravo-Hollis, H., & Sánchez-Mejorada, H. (1991). *Las Cactáceas de México* (Primera ed). Universidad Nacional Autónoma de México.
- Campos-Rojas, E., Pinedo- Espinoza, J. M., Campos-Montiel, R. G., & Hernández-Fuentes, A. D. (2011). Evaluation of pitaya plants (*Stenocereus* spp) of natural populations of Monte Escobedo, Zacatecas. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, XVII(3), 173–182. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2011.17.028>
- Cañar-Sena, D. Y., Caetano, C. M., & Bonilla-Morales, M. M. (2014). Caracterización fisicoquímica y proximal del fruto de pitahaya amarilla [*Selenicereus megalanthus* (K. Schum. Ex Vaupel) Moran] cultivada en Colombia. *Agronomía*, 22(1), 77–87.
- Casas, A., Pickersgill, B., Caballero, J., & Valiente-Banuet, A. (1997). Ethnobotany and Domestication in Xoconochtlí, *Stenocereus stellatus* (Cactaceae), in the Tehuacan valley and La Mixteca Baja, Mexico. *Economic Botany*, 51(3), 279–292. <https://doi.org/10.1007/BF02862097>
- Castro-Enriquez, D. D., Montañón-Leyva, B., Del Toro-Sánchez, C. L., Juárez-Onofre, J. E., Carvajal-Millán, E., López-Aumada, G. A., Barreras-Urbina, C. G., Tapia-Hernández, J. A., & Rodríguez-Félix, F. (2020). Effect of Ultrafiltration of Pitaya Extract (*Stenocereus thurberi*) on Its Phytochemical Content, Antioxidant Capacity, and UPLC-DAD-MS Profile. *Molecules*,

- 25(281), 1–13. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.3390/molecules25020281>
- Cejudo-Bastante, M. J., Hurtado, N., Muñoz-Burguillos, P., & Heredia, F. J. (2020). *Stenocereus griseus* (Haw) pitaya as source of natural colourant: technological stability of colour and individual betalains. *International Journal of Food Science and Technology*, 54(11), 3024–3031. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14215>
- Cervantes-Arista, C., Guerrero-Roman, A., Oidor-Chan, V. H., Díaz de León-Sánchez, F., Álvarez-Ramírez, E. L., Pelayo-Zaldívar, C., Sierra-Palacios, E. del C., & Mendoza-Espinoza, J. A. (2020). Chemical characterization, antioxidant capacity, and anti-hyperglycemic effect of *Stenocereus stellatus* fruits from the arid Mixteca Baja region of Mexico. *Food Chemistry*, 328, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127076>
- Chik, C. T., Bachok, S., Baba, N., Abdullah, A., & Abdullah, N. (2011). Quality characteristics and acceptability of three types of pitaya fruits in a consumer acceptance test. *Journal of Tourism, Hospitality & Culinary Arts*, 3(1), 89–98.
- Choo, W. S. (2018). Betalains: Application in Functional Foods. In J. M. Mérillon & K. Ramawat (Eds.), *Bioactive Molecules in Food* (first, pp. 1–28). Reference Series in Phytochemistry. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-54528-8_38-1
- Chuck-Hernández, C., Parra-Saldívar, R., & Sandate-Flores, L. (2015). Pitaya (*Stenocereus* spp.). In B. Caballero, P. M. Finglas, & F. Toldrá (Eds.), *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 385–391). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00775-3>
- de Lima, C. A., Gelape Faleiro, F., Vilela Junqueira, N. T., de Oliveira Cohen, K., & Gracioli Guimarães, T. (2013). Características físico-químicas, polifenóis e flavonoides amarelos em frutos de espécies de pitaias comerciais e nativas do Cerrado. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 35(2), 565–570. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452013000200027>
- Díaz-Medina, E. M., Rodríguez-Rodríguez, E. M., & Díaz-Romero, C. (2007). Chemical characterization of *Opuntia dillenii* and *Opuntia ficus indica* fruits. *Food Chemistry*, 103(1), 38–45.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.064>

- Djerassi, C., Farkas, E., Liu, L. H., & Thomas, G. H. (1955). The Cactus Triterpenes Thurberogenin and Stellatogenin. *Journal of the American Chemical Society*, 77(20), 5330–5336. <https://doi.org/10.1021/ja01625a038>
- El Kossori, R. L., Villaume, C., El Boustani, E., Sauvaire, Y., & Méjean, L. (1998). Composition of pulp, skin and seeds of prickly pears fruit (*Opuntia ficus indica* sp.). *Plant Foods for Human Nutrition*, 52(3), 263–270. <https://doi.org/10.1023/A:1008000232406>
- Emaldi, U., Nassar, J. M., & Semprum, C. (2006). Pulpa del fruto del cardón dato (*Stenocereus griseus*, Cactaceae) como materia prima para la elaboración de mermelada. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, 56(1), 83–89.
- Emaldi, U., Nassar, J. M., & Semprun, C. (2004). Physicochemical character and food value of two Venezuelan cactus fruits. *Tropical Science*, 44, 105–107. <https://doi.org/10.1002/ts.146>
- Encarnación Dimayuga, R., Virgen, M., & Ochoa, N. (1998). Antimicrobial activity of medicinal plants from Baja California Sur (Mexico). *Pharmaceutical Biology*, 36(1), 33–43. <https://doi.org/10.1076/phbi.36.1.33.4625>
- Esquivel, P., Stintzing, F. C., & Carle, R. (2007). Pigment pattern and expression of colour in fruits from different *Hylocereus* sp. genotypes. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8(3), 451–457. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.03.022>
- Flores-Valdez, C. A. (2002). *Producción y comercialización de pitaya (Stenocereus sp) en México* (First edit). Universidad Autónoma Chapingo.
- Flores-Valdéz, C. A. (2003). Pitaya (*Stenocereus* sp.). Producción y comercialización en México. In C. A. Flores-Valdéz (Ed.), *Pitayas y pitahayas. Producción, cosecha, industrialización y comercialización* (Primera Ed, p. 173 p). CIESTAAM.
- Fuentes S., L., Mendoza S., I. A., López M., A. M., Castro V., M. F., & Urdaneta M., C. J. (2011). Effectiveness of a coagulant extracted from *Stenocereus griseus* (Haw .) Buxb in water purification griseus (Haw .) Buxb . en la potabilización del agua. *Rev. Téc. Ing. Univ. Zulia*, 34(1), 48–56.

- Fujihara, K., Shimoyama, T., Kawazu, R., Sasaki, H., Koyama, K., Takahashi, K., & Kinoshita, K. (2021). Amyloid β aggregation inhibitory activity of triterpene saponins from the cactus *Stenocereus pruinosus*. *Journal of Natural Medicines*, 75, 284–298. <https://doi.org/10.1007/s11418-020-01463-0>
- Gandía-Herrero, F., Cabanes, J., Escribano, J., García-Carmona, F., & Jiménez-Atiénzar, M. (2013). Encapsulation of the most potent antioxidant betalains in edible matrixes as powders of different colors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(18), 4294–4302. <https://doi.org/10.1021/jf400337g>
- García-Cayuela, T., Gómez-Maqueo, A., Guajardo-Flores, D., Welte-Chanes, J., & Cano, M. P. (2019). Characterization and quantification of individual betalain and phenolic compounds in Mexican and Spanish prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L . Mill) tissues : A comparative study. *Journal of Food Composition and Analysis*, 76, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2018.11.002>
- García-Cruz, L., Dueñas, M., Santos-Buelgas, C., Valle-Guadarrama, S., & Salinas-Moreno, Y. (2017). Betalains and phenolic compounds profiling and antioxidant capacity of pitaya (*Stenocereus* spp.) fruit from two species (*S. pruinosus* and *S. stellatus*). *Food Chemistry*, 234, 111–118. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.174>
- García-Cruz, L., Guerra-Ramírez, D., Martínez-Damián, M. T., Zuleta-Prada, H., & Valle-Guadarrama, S. (2021a). Shelf life of pitaya [*Stenocereus pruinosus* (Otto ex Pfeiff .) Buxb] fruit affected by temperature and guar gum, beeswax, oleic acid, and thyme essential oil coatings. *Acta Agrícola y Pecuaria*, 7(1), E0071011. <https://doi.org/https://doi.org/10.30973/aap/2021.7.0071011>
- García-Cruz, L., Valle-Guadarrama, S., Salinas-Moreno, Y., & Joaquín-Cruz, E. (2013). Physical, chemical, and antioxidant activity characterization of pitaya (*Stenocereus pruinosus*) fruits. *Plant Foods for Human Nutrition*, 68(4), 403–410. <https://doi.org/10.1007/s11130-013-0391-8>
- García-Cruz, L., Valle-Guadarrama, S., Salinas-Moreno, Y., & Luna-Morales, C. del C. (2016). Postharvest quality, soluble phenols, betalains content, and antioxidant activity of *Stenocereus pruinosus* and *Stenocereus stellatus* fruit.

- Postharvest Biology and Technology*, 111, 69–76.
<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.07.004>
- García-Cruz, L., Valle-Guadarrama, S., Soto-Hernández, R. M., Guerra-Ramírez, D., Zuleta-Prada, H., Martínez-Damián, M. T., & Ramírez-Valencia, Y. D. (2021b). Separation of pitaya (*Stenocereus pruinosus*) betaxanthins, betacyanins, and soluble phenols through multistage aqueous two-phase systems. *Food and Bioprocess Technology*, 14, 1791–1804.
<https://doi.org/10.1007/s11947-021-02676-1>
- García-Lucas, K. A., Méndez-Lagunas, L. L., Rodríguez-Ramírez, J., Campanella, O. H., Patel, B. K., & Barriada-Bernal, L. G. (2017). Physical properties of spray dried *Stenocereus griseus* pitaya juice powder. *Journal of Food Process Engineering*, 40(3), 1–9. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12470>
- García-Mateos, M. del R., Quiroz-González, B., Corrales-García, J., Ybarra-Moncada, M. C., & Leyva-Ruelas, G. (2019). Ozone-high hydrostatic pressure synergy for the stabilization of refrigerated pitaya (*Stenocereus pruinosus*) juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 56, 102187. <https://doi.org/10.1016/J.IFSET.2019.102187>
- Gaur, M. K., & Squires, V. (2018). Geographic Extent and Characteristics of the World's Arid Zones and Their Peoples. In M. K. Gaur & V. . Squires (Eds.), *Climate Variability Impacts on Land Use and Livelihoods in Drylands* (pp. 3–20). Springer, Cham. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-319-56681-8_1
- Gaytán-Andrade, J. J., Cobos-Puc, L. E., Iliná, A., Moreno-Dávila, I. M. M., Aguilar, C. N., & Silva-Belmares, S. Y. (2020). Characterization, digestibility and prebiotic effect of the fruit extract of *Stenocereus queretaroensis* F.A.C. Weber Buxbaum. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 43(3), 325.
<https://doi.org/10.35196/rfm.2020.3.325>
- Gibson, A., & Horak, E. (1978). Systematics, anatomy and phylogenic of Mexican columnar cacti. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 65(4), 999–1057.
- Granado-Sánchez, D., Mercado, A., & Florencia, G. (1999). Las pitayas de México. *Ciencia y Desarrollo*, 145(25), 59–67.

- Guzmán-Maldonado, S. H., Herrera-Hernández, G., Hernández-López, D., Reynoso-Camacho, R., Guzmán-Tovar, A., Vaillant, F., & Brat, P. (2010). Physicochemical, nutritional and functional characteristics of two underutilised fruit cactus species (*Myrtillocactus*) produced in central Mexico. *Food Chemistry*, 121(2), 381–386. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.12.039>
- Hernández-Fuentes, A. D., Trapala-Islas, A., Gallegos-Vásquez, C., Campos-Montiel, R. G., Pinedo-Espinoza, J. M., & Guzmán-Maldonado, S. H. (2015). Physicochemical variability and nutritional and functional characteristics of xoconostles (*Opuntia* spp.) accessions from Mexico. *Fruits*, 70(2), 109–116. <https://doi.org/10.1051/fruits/2015002>
- Hernández, T., Canales, M., Avila, J. G., Duran, A., Caballero, J., Romo de Vivar, A., & Lira, R. (2003). Ethnobotany and antibacterial activity of some plants used in traditional medicine of Zapotitlán de las Salinas, Puebla (México). *Journal of Ethnopharmacology*, 88(2–3), 181–188. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(03\)00213-7](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00213-7)
- Imai, T., Okazaki, S., Kinoshita, K., Koyama, K., Takahashi, K., & Yuasa, H. (2006). Triterpenoid saponins from cultural plants of *Stenocereus stellatus* (Cactaceae). *Journal of Natural Medicines*, 60(1), 49–53. <https://doi.org/10.1007/s11418-005-0004-4>
- Lira, R., Casas, A., Rosas-López, R., Paredes-Flores, M., Pérez-Negrón, E., Rangel-Landa, S., Solís, L., Torres, I., & Dávila, P. (2009). Traditional knowledge and useful plant richness in the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Mexico. *Economic Botany*, 63(3), 271–287. <https://doi.org/10.1007/s12231-009-9075-6>
- López-Gómez, R., Díaz-Pérez, J. C., & Flores-Martínez, G. (2000). Propagación vegetativa de tres especies de cactáceas: Pitaya (*Stenocereus griseus*), Tunillo (*Stenocereus stellatus*) y Jiotilla (*Escontria chiotilla*). *Agrociencia*, 34(3), 363–367.
- López-Martínez, C. R., García-Mateos, M. del R., Gallegos-Vázquez, C., & Sahagún-Castellanos, J. (2015). Antioxidant components and nutritional

- quality of 15 genotypes of Xoconostle (*Opuntia* spp.). *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 17, 33–49.
- 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, México. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 12(2), 245–251.
- Luna-Morales, C. del 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, UNAM, Serie Botánica*, 72(2), 131–155.
- Luna-Morales, C. del C., & Aguirre-Rivera, J. R. (2001). Clasificación tradicional, aprovechamiento y distribución ecológica de la pitaya Mixteca en México. *Interciencia*, 26(1), 18–24.
- Macheix, J., Fleuriot, A., & Billot, J. (2018). *Fruit phenolics* (2nd ed.). CRC Press.
- Margarito, A., Soriano, R. R., & Rodríguez, L. G. (2019). Evaluación nutritiva de bloques multinutricionales elaborados con frutos de pitaya *Stenocereus griseus* y xoconostle *S. stellatus*, en sustitución de melaza de caña de azúcar. *Revista Mexicana de Agroecosistemas*, 6(2), 234–238. <http://www.tjyybjb.ac.cn/CN/article/downloadArticleFile.do?attachType=PDF&id=9987>
- Martínez-González, J. C., & Cruz-Hernández, J. P. (1995). Caracterización de frutos de pitaya *Stenocereus griseus*. H., en La Mixteca. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 1(4), 77–82. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.1994.08.053>
- Martínez-Villegas, Y. M., Andrade-Rodríguez, M., Villegas-Monter, Á., Alia-Tejacal, I., Villegas-Torres, Ó. G., & López-Martínez, V. (2011). Cultivo in vitro de pitayo (*Stenocereus stellatus* [Pfeiffer] Riccobono). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 17(3), 95–105.
- Martínez, E. M. M., Sandate-Flores, L., Rodríguez-Rodríguez, J., Rostro-Alanis, M., Parra-Arroyo, L., Antunes-Ricardo, M., Serna-Saldívar, S. O., Iqbal, H. M. N., & Parra-Saldívar, R. (2021). Underutilized mexican plants: Screening of antioxidant and antiproliferative properties of mexican cactus fruit juices. *Plants*, 10, 1–13. <https://doi.org/10.3390/plants10020368>

- Mercado, B. A., & Granado-Sánchez, D. (2002). *La pitaya, biología, ecología, fisiología, sistemática y etnobotánica* (Primera ed). Universidad Autónoma Chapingo.
- Mohd Adzim Khalili, R., Norhayati, A. H., Rokiah, M. Y., Asmah, R., Mohd Nasir, M. T., & Siti Muskina, M. (2006). Proximate composition and selected mineral determination in organically grown red pitaya (*Hylocereus* sp.). *Journal of Tropical Agriculture and Food Science*, 34(2), 269–275.
- Moreira-Santos, G. B., Dionísio, A. P., Rodrigues-Magalhães, H. C., Pinto de Abreu, F. A., Machado-Lira, S., Viana de Lima, A. C., Silvestre da Silva, G., Carvalho-Gueddes, J. A., da Silva-Araujo, I. M., Guirado-Artur, A., Ferreira-Pontes, D., Zocolo, G. J., & Ocolo. (2020). Effects of processing on the chemical, physicochemical, enzymatic, and volatile metabolic composition of pitaya (*Hylocereus polyrhizus* (F.A.C. Weber) Britton & Rose). *Food Research International*, 127, 108710. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108710>
- Moreno-Álvarez, M. J., García-Pantaleón, D., Belén-Camacho, D., Medina-Martínez, C., & Muñoz-Ojeda, N. (2008). Análisis bromtológico de la tuna *Opuntia elatior* Miller (Cactaceae). *Revista de La Facultad de Agronomía*, 25(1), 68–80.
- Moreno-Limón, S., Barrón-González, M. P., Martínez-Herrera, I., Quiñones-Gutiérrez, Y., Menchaca-Arredondo, J. L., & Rodríguez-Garza, R. G. (2015). In vitro inhibition of *Helicobacter pylori* by methanolic extract of *Stenocereus marginatus* and *Castela texana*. *International Journal of Medicinal Plants and Alternative Medicine*, 3(1), 10–17.
- Nagy, S. (1980). Vitamin C contents of citrus fruit and their products: a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28, 8–18. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7358939>
- Nurul, S. R., & Asmah, R. (2014). Variability in nutritional composition and phytochemical properties of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) from Malaysia and Australia. *International Food Research Journal*, 21(4), 1689–1697.
- Ochoa-Velasco, C. E., & Guerrero-Beltrán, J. Á. (2012). Ultraviolet-C Light Effect

- on Pitaya (*Stenocereus griseus*) Juice. *Journal of Food Research*, 1(2), 60–70. <https://doi.org/10.5539/jfr.v1n2p60>
- Ochoa-Velasco, C. E., & Guerrero-Beltrán, J. Á. (2013). Short-wave ultraviolet-C light effect on pitaya (*Stenocereus griseus*) juice inoculated with *Zygosaccharomyces bailii*. *Journal of Food Engineering*, 117(1), 34–41. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.020>
- Panda, S. K., Behera, S. K., Witness Qaku, X., Sekar, S., Ndinteh, D. T., Nanjundaswamy, H. M., Ray, R. C., & Kayitesi, E. (2017). Quality enhancement of prickly pears (*Opuntia* sp.) juice through probiotic fermentation using *Lactobacillus fermentum* - ATCC 9338. *LWT - Food Science and Technology*, 75, 453–459. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.09.026>
- Pérez-Loredo, M. G., Hernández-De Jesús, L., & Barragán-Huerta, B. E. (2017). Extracción de compuestos bioactivos de pitaya roja (*Stenocereus stellatus*) aplicando pretratamientos con microondas, ultrasonido y enzimáticos. *Agrociencia*, 51(2), 135–151.
- Pérez-Loredo, M. G., García-Ochoa, F., & Barragán-Huerta, B. E. (2016). Comparative Analysis of Betalain Content in *Stenocereus Stellatus* Fruits and Other Cactus Fruits Using Principal Component Analysis. *International Journal of Food Properties*, 19(2), 326–338. <https://doi.org/10.1080/10942912.2015.1022259>
- Pimienta-Barrios, E. (1994). Prickly pear (*Opuntia* spp.): A valuable fruit crop for the semi-arid lands of Mexico. *Journal of Arid Environments*, 28(1), 1–11. [https://doi.org/10.1016/S0140-1963\(05\)80016-3](https://doi.org/10.1016/S0140-1963(05)80016-3)
- Pimienta-Barrios, E., & Nobel, P. S. (1994). Pitaya (*Stenocereus* spp., Cactaceae): An ancient and modern fruit crop of Mexico. *Economic Botany*, 48(1), 76–83. <https://doi.org/10.1007/BF02901385>
- Pimienta-Barrios, E., & Nobel, P. S. (1995). Reproductive characteristics of pitayo (*Stenocereus queretaroensis*) and their relationships with soluble sugars and irrigation. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 120(6), 1082–1086. <https://doi.org/10.21273/jashs.120.6.1082>

- Pimienta-Barrios, E., Nobel, P. S., Robles-murguía, C., Méndez-Morá, L., Pimienta-Barrios, E., & Yepez-Gonzalez, E. (1997). Ethnobotany , Productivity , and Ecophysiology of Pitaya (*Stenocereus queretaroensis*). *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 2, 29–47.
- Piña, L. I. (1977). Pitayas y otras cactáceas afines al estado de Oaxaca. *Revista de La Sociedad Mexicana de Cactología*, 22, 3–14.
- Quiroz-González, B., Rodríguez-Martínez, V., García-Mateos, M. del R., Torres, J. A., & Welte-Chanes, J. (2018). High hydrostatic pressure inactivation and recovery study of *Listeria innocua* and *Saccharomyces cerevisiae* in pitaya (*Stenocereus pruinosus*) juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 50(May), 169–173. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.10.003>
- Quiroz-González, B., Rodriguez-Martinez, V., Welte-Chanes, J., García-Mateos, M. del R., Corrales-García, J., Ybarra-Moncada, M. C., Leyva-Ruelas, G., Torres, J. A., & Torres, J. A. (2019). Refrigerated storage of high hydrostatic pressure (HHP) treated pitaya (*Stenocereus pruinosus*) juice. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 19(1), 387–399. <https://doi.org/https://doi.org/10.24275/rmiq/Alim588>
- Rodríguez-Sánchez, J. A., Cuatzo-Lozano, M. I., Pérez-Loredo, M. G., Abarrca-Sarro, D. I., & Gallardo Navarro, Y. (2017a). Alginate Encapsulation as a Preservation Method of Pitaya Fruit Juice (*Stenocereus* spp.). *Journal of Food Science and Engineering*, 7(3), 127–134. <https://doi.org/10.17265/2159-5828/2017.03.002>
- Rodríguez-Sánchez, J. A., Cruz y Victoria, M. T., & Barragán-Huerta, B. E. (2017b). Betaxanthins and antioxidant capacity in *Stenocereus pruinosus*: Stability and use in food. *Food Research International*, 91, 63–71. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2016.11.023>
- Romero-Cerecero, O., Reyes-Morales, H., Aguilar-Santamaría, L., Huerta-Reyes, M., & Tortoriello-Garcia, J. (2009). Use of medicinal plants among patients with diabetes mellitus type 2 in Morelos, Mexico. *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas*, 8(5), 380–388.
- Rosas-Benítez, A., Trujillo-Cárdenas, L., Valle-Guadarrama, S., Salinas-Moreno,

- Y., & García-Cruz, L. (2016). Quality attributes of pitaya (*Stenocereus pruinosus*) fruit handled in postharvest with and without thorns under refrigerated storage. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, XXII(3), 191–207. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2016.04.011>
- Sandate-Flores, L., Rostro-Alanis, M. de J., Mancera-Andrade, E. I., Esquivel-Hernandez, D. A., Brambila-Paz, C., Parra-Saldívar, R., Welte-Chanes, J., Escobedo-Avellaneda, Z., & Rodríguez-Rodríguez, J. (2017). Using high hydrostatic pressures to retain the antioxidant compounds and to reduce the enzymatic activity of a pitaya–pineapple (*Stenocereus* sp.–*Fragaria ananassa*) beverage. *Journal of Food Science and Technology*, 54(3), 611–619. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2482-7>
- Santacruz-Vázquez, C., Santacruz-Vázquez, V., & Huerta-Espinosa, V. M. (2009). *Agroindustrialización de pitaya*. Editorial Universitaria.
- Sawaya, W. N., Khatchadourian, H. A., Safi, W. M., & Al-Muhammad, H. M. (1983). Chemical characterization of prickly pear pulp, *Opuntia ficus-indica*, and the manufacturing of prickly pear jam. *J. Fd. Technol.*, 18, 183–193. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1983.tb00259.x>
- Shirai, K., Hernandez, C. G., Mejía, P., Blanco, S., Román, A., Yáñez, L., & Escalona, H. (2016). Post-harvest Preservation of Cactus Fruits Produced in Semidesertic Areas of Oaxaca by Biopolymer Coatings. *The International Journal of Interdisciplinary Social Sciences: Annual Review*, 11(1), 15–26. <https://doi.org/10.18848/1833-1882/CGP/15-26>
- Sitrit, Y., Golan, E., Bar, E., & Lewinsohn, E. (2012). Fruit quality evaluation of two new cactus crops for arid zones: *Cereus peruvianus* and *Cereus jamacaru*. *Israel Journal of Plant Sciences*, 60, 335–343. <https://doi.org/10.1560/IJPS.60.1.335>
- Sonawane, M. S. (2017). Nutritive and medicinal value of dragon fruit. *The Asian Journal of Horticulture*, 12(2), 267–271. <https://doi.org/10.15740/has/tajh/12.2/267-271>
- Soto-Cabrera, D., Salazar, J. R., Noguera-Gutiérrez, I., Torres-Olvera, M., Cerón-Nava, A., Rosales-Guevara, J., Terrazas, T., & Rosas-Acevedo, H.

- (2016). Quantification of polyphenols and flavonoid content and evaluation of anti-inflammatory and antimicrobial activities of *Stenocereus stellatus* extracts. *Natural Product Research*, 30(16), 1885–1889. <https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1084302>
- Soto-Castro, D., Gutiérrez-Miguel, C., León-Martínez, A, S.-G. P., Aragón-Lucero, I., & Antonio-Antonio, F. (2019). Spray drying microencapsulation of betalain rich extracts from *Escontria chiotilla* and *Stenocereus queretaroensis* fruits using cactus mucilage. *Food Chemistry*, 272(August 2018), 715–722. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.069>
- Stintzing, F. C., & Carle, R. (2007). Betalains - emerging prospects for food scientists. *Trends in Food Science and Technology*, 18(10), 514–525. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.04.012>
- Terán, Y., Navas, D., Petit, D., Garrido, E., & D'Aubeterre, R. (2015). Análisis de las características físico-químicas del fruto *Opuntia ficus--indica* (L.) Miller, Cosechados en Lara, Venezuela. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 16(1), 69–74.
- Tran, H. D., Yen, C. R., & Chen, Y. K. H. (2015). Effect of pollination method and pollen source on fruit set and growth of red-peel pitaya (*Hylocereus* spp.) in Taiwan. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 90(3), 254–258. <https://doi.org/10.1080/14620316.2015.11513179>
- Treviño, J. F., Rodríguez-Garza, R. G., Verde, M. J., Morales, M. E., Garza, R. A., Rivas, C., & Oranday, A. (2012). Actividad antifúngica de *Stenocereus pruinosus* y *Echinocereus stramineus*. *Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas*, 43(1), 42–48.
- Vargas-Campos, L., Valle-Guadarrama, S., Martínez-Bustos, F., Salinas-Moreno, Y., Lobato-Calleros, C., & Calvo-López, A. D. (2018). Encapsulation and pigmenting potential of betalains of pitaya (*Stenocereus pruinosus*) fruit. *Journal of Food Science and Technology*, 55(7), 2436–2445. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3161-7>

3 SHELF LIFE OF PITAYA [*Stenocereus pruinosus* (Otto ex Pfeiff.) Buxb.] FRUITS AFFECTED BY TEMPERATURE AND COATINGS OF GUAR GUM, BEESWAX, OLEIC ACID, AND THYME ESSENTIAL OIL

3.1 Abstract

Pitaya [*Stenocereus pruinosus* (Otto ex Pfeiff.) Buxb.] produces a fruit with high commercialization potential, but shelf life is limited to few days. The objective was to apply biopolymeric coatings to enlarge shelf life of pitaya fruits at 25 °C and under refrigeration at 12 °C. At each temperature, fruits without any treatment (Control), fruits coated with emulsion of 1000 ppm of thyme essential oil, and fruits coated with emulsion of 1% guar gum, 7.5% beeswax, and 7.5% oleic acid, without essential oil, and with 1000 ppm of thyme essential oil were handled. Shelf life was 6 d at 25 °C, without beneficial effect of coatings, but increased to 15 d with refrigeration and coatings based on guar gum, beeswax, and oleic acid, since fungal growth was delayed and weight loss was reduced, allowing fresh appearance, without significant modification of color, firmness, pH, total soluble solids, titratable acidity, contents of soluble phenols and betalains, and antioxidant capacity.

Keywords

Antioxidant capacity, betalains, biopolymers, postharvest quality, refrigeration, soluble phenols.

Thesis of Ph.D. in Ciencias Agroalimentarias, Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo.

Author: M. C. Leticia García Cruz

Thesis Director: Dr. Salvador Valle Guadarrama

VIDA DE ANAQUEL DE FRUTOS DE PITAYA [*Stenocereus pruinosus* (Otto ex Pfeiff.) Buxb.] AFECTADA POR TEMPERATURA Y RECUBRIMIENTOS DE GOMA GUAR, CERA DE ABEJA, ÁCIDO OLEICO Y ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO

3.2 Resumen

La pitaya [*Stenocereus pruinosus* (Otto ex Pfeiff.) Buxb.] produce un fruto con alto potencial de comercialización, pero con vida útil de pocos días. El objetivo del presente estudio fue aplicar recubrimientos biopoliméricos para alargar la vida de anaquel de frutos de pitaya a 25°C y bajo refrigeración a 12°C. En cada temperatura se manejaron frutos sin ningún tratamiento (Control), frutos tratados con emulsión de 1000 ppm de aceite esencial de tomillo y frutos recubiertos con emulsión de 1% goma guar, 7.5% cera de abeja y 7.5% ácido oleico, sin aceite esencial y con 1000 ppm de aceite esencial de tomillo. La vida útil fue de 6 d a 25°C, sin el efecto benéfico de los recubrimientos, pero aumentó a 15 d con refrigeración y uso de recubrimientos de goma guar, cera de abeja y ácido oleico, pues retrasó el desarrollo fúngico y redujo la pérdida de peso, permitiendo apariencia fresca sin modificación significativa de color, firmeza, pH, sólidos solubles totales, acidez titulable, contenido de fenoles solubles y betalaínas y capacidad antioxidante.

Palabras clave: Betalaínas, calidad postcosecha, capacidad antioxidante, fenoles solubles, biopolímeros, refrigeración

Tesis de Doctorado en Ciencias Agroalimentarias, Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo.

Autor: M. C. Leticia García Cruz

Director de tesis: Dr. Salvador Valle Guadarrama

3.3 Introduction

Pitaya [*Stenocereus pruinosus* (Otto ex Pfeiff.) Buxb.], a columnar cactus, develops in arid and semi-arid regions (Casas et al. 2007). The fruit is a polyspermatic berry with red, yellow, orange, pink, purple, and white pulp. The fruit has an aromatic, juicy, and sweet pulp (Chuck-Hernández et al. 2015) that is rich in minerals as Fe, Cu, and Zn (García-Cruz et al. 2013), and contains high quantities of bioactive compounds, such as betalains and polyphenolic compounds (García-Cruz et al. 2017; Rodríguez-Sánchez et al. 2017).

The pitaya fruit is non-climacteric (Armella et al. 2003), so harvest must be done at consumption maturity and shelf life is commonly limited to 3-5 d due to fungal proliferation (García-Cruz et al. 2016) and presence of thorns which perforate the fragile epicarp during packaging (Shirai et al. 2016). Rosas-Benítez et al. (2016) showed that pitaya fruits can be handled without thorns during storage. However, weight loss due to transpiration increases derived from the tissue's exposure around the areolar zones. The use of refrigeration for handling pitaya fruits in postharvest has been studied in an incipient way. Shirai et al. (2016) showed that, with refrigeration and coatings based on chitosan and neem essential oil, shelf life can be extended with better appearance, consistency, and aroma, but flavor resulted altered.

Biopolymeric coatings can maintain firmness and extend the shelf life of fruits (Martínez-Mendoza et al. 2020) due to the modification of the gas exchange capacity (Torres-León et al. 2018) that causes a modified atmosphere type effect. Besides, coatings can serve as a vehicle for incorporating active agents that help reduce transpiration and prevent microorganism proliferation (Rives-Castillo et al. 2018). In other cacti fruit, biopolymeric coatings with essential oils have been an effective strategy to minimize microbial development and lengthen the postharvest life (Valle-Ortiz et al. 2019). In this context, the objective was to apply biopolymeric coatings to enlarge the shelf life of pitaya fruits at 25 °C and under refrigeration at 12 °C.

3.4 Materials and methods

3.4.1 Plant material

Pitaya (*S. pruinosus*) red variant fruits (Figure 4) were used. Fruits were harvested at Dolores Hidalgo, Huitziltepec, Puebla, Mexico (18° 51' 06" N, 97° 55' 00" W; 1920 masl). The physiological condition corresponded to commercial maturity, characterized by an easy detachment of thorns and brightness in epicarp. Fruits were placed at 12 °C for 24 h previous to the experiment. Those with mechanical damage and diseases or pest were eliminated.



Figure 4. External (left) and internal (right) appearance of red variant pitaya (*Stenocereus pruinosus*) fruits without thorns.

3.4.2 Experimental organization

Fruits were handled at 25 °C and 75% relative humidity (Rh) and 12 °C and 90% Rh. Four treatments were formed at each storage condition: untreated fruit (Control), fruits immersed for 10 s in an emulsion of 1000 ppm of thyme essential oil (Eo), fruits coated with an emulsion of 1% guar gum and 15% lipid component (Gg), and fruits coated with an emulsion of 1% guar gum, 15% lipid phase, and 1000 ppm thyme essential oil (Gg+Eo). The lipid phase included beeswax and oleic acid at a 50:50 ratio (Table 5). After application, fruits were left exposed to ambient air until dryness on the surface. Batches of four fruits were packed in organza cloth and placed together at the respective condition to allow fruits to interact among them. The experiment installation day was numbered as zero.

Four fruits of each treatment were retired on days zero, 1, 2, 3, 4, 5, and 6 from the 25 °C conditions. Also, on days zero, 2, 4, 6, 8, 10, 12, and 14 from the storage at 12 °C, to evaluate appearance, weight loss, the color of epicarp and pulp, firmness of epicarp and pulp, pH, titratable acidity, antioxidant activity, and contents of total soluble solids, betalains, and total soluble phenols.

Table 5. Description of treatments.

Temperature	Treatment	Description
25 °C	Control	Uncoated fruit.
25 °C	Eo	Thyme essential oil in emulsion with 1000 ppm in water.
25 °C	Gg	Emulsion composed of 1% guar gum and 15% lipid component.
25 °C	Gg+Eo	Emulsion composed of 1% guar gum, 15% lipid phase, and 1000 ppm thyme essential oil.
12 °C	Control	Uncoated fruit.
12 °C	Eo	Thyme essential oil in emulsion 1000 ppm in water.
12 °C	Gg	Emulsion composed of 1% guar gum and 15% lipid component.
12 °C	Gg+Eo	Emulsion composed of 1% guar gum, 15% lipid phase, and 1000 ppm thyme essential oil.
Lipid component:		Beeswax and oleic acid at 50:50 ratio.

3.5 Response variables

3.5.1 Cumulative weight loss

Fruits were weighed at the beginning of the experiment and after their removal from storage with a digital scale (Ohaus, USA; 0.01 g resolution). Based on initial data, cumulative weight loss was determined in percentage.

3.5.2 Appearance

The appearance was evaluated with a panel of five untrained judges through a categorical scale of five points, where 5 was excellent, and 1 was appalling.

3.5.3 Color attributes

Color was measured in epicarp and mesocarp of fruits with a Hunter Lab colorimeter (Mini Scan XE Plus 45/0-L, USA) and was expressed as lightness (L^*), hue angle (H^*), and chroma (Sant'Anna et al. 2013).

3.5.4 Firmness

A texture analyzer (TAXT2i, Stable Micro Systems, UK) was used. A needle probe was used to assess epicarp firmness, with a compression routine at 1 mm s^{-1} speed until deformation of 2 mm was achieved. Similarly, a 5-mm diameter spherical probe was used to evaluate mesocarp firmness at 1 mm s^{-1} until a 5 mm deformation was achieved.

3.5.5 Total soluble solids

An Abbe refractometer (Atago Co. Ltd., model 211-W10, Japan) was used to determine total soluble solids (TSS, %) from a drop of juice.

3.5.6 pH and titratable acidity

A liquid obtained through maceration of 5 g of pulp with 35 mL of distilled water was used to measure pH with a portable potentiometer (Hanna Instruments, model HI-8420, Italy), and titratable acidity with NaOH 0.01 N and phenolphthalein as indicator.

3.5.7 Betalains content

Betalains content was evaluated in 1 g of pulp mixed with 10 mL of 80% methanol. Samples were sonicated for 15 min in a Branson® bath (model 1800, USA), agitated in darkness for 30 min at room temperature, and centrifuged at $2200 \times g$

for 10 min (Hettich zentrifugen; Universal Mod. 32, Germany). The residue was submitted to a second similar treatment. The supernatants were pooled and evaluated in terms of absorbance with a UV-vis spectrophotometer with a microplates reader (Synergy® 2 Microplate reader, Gen5 software, Biotek Instruments Inc., Winoosky, VT USA). The betacyanin and betaxanthin contents were determined as described by Castellanos-Santiago and Yahia (2008) with the calculation: $B \text{ (mg/kg)} = (A \times DF \times MW \times V) / (\epsilon \times m \times L)$, where B is betacyanins or betaxanthins, A is the absorbance at 538 nm for betacyanins and 487 nm for betaxanthins, DF is dilution factor, MW is molecular weight (betanine = 550 g mol⁻¹ and indicaxanthine = 308 g mol⁻¹), ϵ is the molar extinction coefficient (betanine = 6.0×10⁶ L mol⁻¹ cm⁻¹ and indicaxanthine = 4.8×10⁶ L mol⁻¹ cm⁻¹), m is mass of sample (kg), and L is the length of the cell (0.5 cm).

3.5.8 Total soluble phenols content

The total soluble phenols (TSP) content was determined in the same extract of betalains, with the Folin-Ciocalteu (FC) reagent method (Singleton and Rossi 1965), adapted to a Synergy® spectrophotometer (Biotek Instruments Inc., Winoosky, VT USA) with a microplates reader. Twenty-five microliters of extract were mixed with 20 µL of the FC 0.2 N reagent; then 125 µL of distilled water and 30 µL of 20% (v/v) sodium carbonate (Na₂CO₃) were added. Samples were left in darkness for 30 min at room temperature, absorbance was measured at 760 nm, and TSP were determined based on a gallic acid curve ($R^2 = 0.995$) and expressed in mg gallic acid equivalents per kilogram of fresh sample (mg kg⁻¹).

3.5.9 Antioxidant capacity by ABTS and FRAP assays

The antioxidant capacity (AC) was determined with the assays ABTS and FRAP, as described by Re et al. (1999) and Benzie and Strain (1996), respectively. In the first, solutions of 7 mM ABTS and 2.6 mM potassium persulphate were prepared and combined at 1:1 ratio. The mixture was left in darkness for 16 h to allow free radicals to be generated. After that, it was diluted with methanol up to absorbance of 1.1 at 734 nm and was named working solution (Ws). Aliquots of

20 µL extract were mixed with 180 µL of Ws; the mixture was left to stand for 10 min, and absorbance was read at 734 nm with a Synergy® spectrophotometer. The FRAP assay used three solutions: acetate buffer at a concentration of 300 mM, a 10 mM solution of TPTZ (2,4,6 Tri(2-pyridyl)-s triazine) dissolved in 40 mM HCl, and a solution of 20 mM ferric chloride hexahydrate ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$). A FRAP reactant was prepared with the combination of solutions at 10:1:1 proportion. A reaction was conducted for 10 min with 20 µL of extract, 180 µL of FRAP reactant, and 60 µL of distilled water, and absorbance was measured with a Synergy® spectrophotometer at 595 nm. A Trolox standard curve (R^2 was 0.997 and 0.999 for ABTS and FRAP assays, respectively) was prepared, and AC was expressed in mmol of Trolox equivalents per kilogram of a fresh sample (mmol kg^{-1}).

3.5.10 Data analysis

The experimental organization had three variation factors: temperature (12 and 25 °C), treatments (Control, Eo, Gg, and Gg+Eo), and storage time (Table 5). An analysis of variance with means comparison routines was performed with the Tukey test, with a significance level of 0.05. The experimental unit consisted of one fruit, and all evaluations were performed in quadruplicate.

3.6 Results and discussion

Pitaya fruits handled at 25 °C showed fungal development, which limited shelf life to six days, in agreement with the report of García-Cruz et al. (2016). Thus, the analysis was performed for the first six-day period (denoted as 6d) to evaluate the temperature effect and the eight to 14 days period (denoted as 8-14d) to assess the storage time effect.

3.6.1 Color attributes

Fruits exhibited initial lightness (L^*), chroma (C^*), and hue angle (H^*) of 13.70% (± 0.77), 28.91 (± 1.37), and 18.96° ($\pm 0.92^\circ$) in mesocarp and 31.39% ($\pm 1.07\%$), 15.36 (± 0.82), and 50.36° ($\pm 2.76^\circ$) in epicarp, respectively, which constitute typical color attributes of pitaya red variant fruits (Figure 4). There was a loss of

the red tonality of flesh with refrigeration. This deteriorative feature became significant with time, since H^* was between 13.8 and 15.5° at 25 °C and between 17.4 and 19.9° at 12 °C during the 6d period, without significant difference, but ranged between 25.0 and 26.4 in the 8-14d period at 12 °C. On the other hand, the covering type did not affect the hue angle of fruits (Table 6). In epicarp, tonality ranged between 44.2 and 50.9°, which locate around the middle region between red and yellow absolute tones (Sant'Anna et al. 2013). In contrast to the flesh, H^* of epicarp was not affected by temperature or treatment applied during the 6d period but increased 29.4% relative to Control in the 8-14d period. Lightness (L^*) also tended to increase under refrigeration, but changes became significant with time only in Control and Gg+Eo treatments, although the modification was less than 4.35 and 4.76% in pulp and epicarp, respectively, which was considered without practical importance. L^* varied between 13.9 and 18.2 in pulp and between 31.8 and 36.0% in epicarp and, even though Gg+Eo caused higher values during the 8-14d period, the modification was small. Regarding chroma, the refrigeration caused a significant increment in the pulp, but the storage time and the coating applied did not affect such attribute. Values were between 19.6 and 23.8 at 25 °C, between 29.6 and 30.8 during the first 6 d at 12 °C, and between 28.3 and 35.4 in the 8-14d period at 12 °C. None of the variation factors affected significantly in epicarp, and values ranged between 14.2 and 18.8 (Table 6).

Table 6. Comparison of means of treatments corresponding to color attributes of pitaya fruits during the first six days (subscript 6d) and between days eight and 14 (subscript 8-14d) of storage at 12 and 25 °C.

T _{period}	Treatment				HSD
	Control	Eo	Gg	Gg+Eo	
Lightness (L*) in mesocarp (%)					
12 _{6d}	14.25 (3.91) B a	14.81 (2.80) A a	15.28 (3.39) A a	14.35 (3.73) B a	3.25
25 _{6d}	13.92 (2.33) B a	13.61 (4.29) A a	14.98 (2.26) A a	13.12 (4.31) B a	3.17
12 _{8-14d}	18.12 (2.65) A a	17.02 (3.44) A a	16.02 (4.43) A a	17.47 (2.60) A a	3.14
HSD	2.6	3	2.98	3.1	
Lightness (L*) in epicarp (%)					
12 _{6d}	33.08 (4.06) A a	33.02 (4.16) A a	32.28 (5.37) A a	31.88 (3.48) B a	4.04
25 _{6d}	34.96 (4.83) A a	33.60 (3.41) A a	33.06 (2.53) A a	31.30 (5.90) B a	4.07
12 _{8-14d}	32.13 (4.24) A b	34.03 (2.86) A ab	32.78 (4.12) A ab	36.05 (3.82) A a	3.55
HSD	3.76	3	3.58	3.88	
Chroma (C*) in mesocarp					
12 _{6d}	29.93 (6.63) A a	30.80 (5.81) A a	29.63 (5.92) A a	29.68 (5.49) A a	5.59
25 _{6d}	20.79 (8.71) B a	22.69 (8.18) B a	23.74 (10.19) A a	19.62 (9.07) B a	8.5
12 _{8-14d}	35.40 (5.57) A a	34.26 (9.79) A a	28.34 (10.06) A a	33.67 (7.48) A a	7.87
HSD	6.08	6.97	7.67	6.42	
Chroma (C*) in epicarp					
12 _{6d}	15.71 (3.82) AB a	14.63 (2.82) B a	15.32 (3.84) A a	16.85 (4.33) A a	3.5
25 _{6d}	17.99 (5.17) A a	18.81 (5.31) A a	17.99 (3.08) A a	17.41 (4.63) A a	4.32
12 _{8-14d}	14.27 (3.40) B b	15.05 (2.98) B ab	16.95 (3.30) A ab	17.65 (2.57) A a	2.88
HSD	3.6	3.31	2.93	3.38	
Hue angle (H*) in mesocarp (degrees)					
12 _{6d}	18.19 (7.46) B a	19.87 (8.65) B a	18.06 (6.19) B a	17.49 (5.59) B a	15.73
25 _{6d}	13.80 (6.46) B a	16.76 (8.30) B a	15.51 (8.75) B a	14.27 (6.03) B a	6.99
12 _{8-14d}	25.08 (3.97) A a	26.39 (4.03) A a	24.66 (5.85) A a	25.83 (3.32) A a	4.1
HSD	4.87	6.2703	6.04	4.39	
Hue angle (H*) in epicarp (degrees)					
12 _{6d}	46.30 (8.60) A a	48.52 (14.91) A a	50.80 (6.70) A a	49.50 (12.87) A a	10.52
25 _{6d}	44.33 (8.63) A a	44.20 (9.36) A a	44.39 (10.58) A a	50.91 (13.35) A a	9.96
12 _{8-14d}	42.74 (9.07) A b	48.42 (9.01) A ab	47.03 (11.94) A ab	55.32 (11.84) A a	9.87
HSD	7.52	9.82	8.56	10.88	

HSD: Honest significant difference (Tukey, $\alpha=0.05$). Different capital letters indicate a significant difference between the values of a column. Different lowercase letters indicate a significant difference between values of a row. Values between parentheses are standard deviation. Treatments: Eo, thyme essential oil emulsion at 1000 ppm; Gg, emulsion with 1% guar gum and 15% lipid phase; Gg+Eo, emulsion with 1% guar gum, 15% lipid phase, and 1000 ppm thyme essential oil.

3.6.2 Cumulative weight loss

Fruits of the Control treatment tended to have more significant weight loss at the highest thermal condition. However, during the first 6 d the contrast was not significant relative to the refrigerated handling and varied between 2.5 and 3.9% on average (Table 7). Weight loss occurs mainly due to transpiration induced by a vapor pressure deficit at the external environment. As temperature increases, the relative humidity of the surrounding air decreases, which induces greater transport of water vapor from the interior of fruits (Hübert and Lang 2012). Given its continuous nature, during the 8-14d period at 12 °C there was an accumulated average value of 9.7%, which was significantly higher than in the 6d period. The treatment with essential oil (Eo) caused behavior with similar values to those of the Control treatment, which indicated that the water vapor permeability of the fruit epicarp did not change. However, weight loss was significantly reduced to less than half of that accumulated in Control with treatments based on guar gum (Gg and Gg+Eo) due to the presence of beeswax and oleic acid in the applied emulsion, that reduced the water vapor permeability of the outer layer of fruits. At the end, Gg+Eo treatments allowed weight loss to be less than 6%, which contrasted with the 10 and 11% obtained in Control and Eo treatments. Shirai et al. (2016) found similar behavior in pitaya fruits with coatings of chitosan, hydroxymethylpropyl cellulose, and neem essential oil stored at 10 °C and 80% Rh. In prickly pear (*Opuntia albicarpa* L.; Cactaceae) fruits, weight loss between 5 and 7% was found using chitosan and candelilla wax (Valle-Ortiz et al. 2019).

Table 7. Comparison of means of treatments corresponding to cumulative weight loss, appearance, epicarp firmness, and pulp firmness in pitaya fruits during the first six days (subscript 6d) and between days eight and 14 (subscript 8-14d) of storage at 12 and 25 °C

T _{period}	Treatment				HSD
	Control	Eo	Gg	Gg+Eo	
<u>Cumulative weight loss (%)</u>					
12 _{6d}	2.49 (1.98) B ab	2.98 (2.35) B a	1.14 (0.94) B b	1.25 (0.95) A b	1.57
25 _{6d}	3.90 (3.10) B a	4.35 (3.74) B a	3.18 (2.88) A a	3.98 (3.44) B a	3.09
12 _{8-14d}	9.71 (2.25) A a	10.16 (3.08) A a	4.73 (1.08) A b	4.16 (1.25) B b	1.94
HSD	2.13	2.66	1.59	1.87	
<u>Appearance</u>					
12 _{6d}	4.00 (0.84) A bc	3.38 (1.13) A c	4.69 (0.38) A a	4.31 (0.55) A ab	0.64
25 _{6d}	3.75 (0.89) AB a	3.38 (1.30) A a	3.69 (1.07) B a	3.50 (1.06) B a	0.59
12 _{8-14d}	3.06 (0.52) B ab	2.94 (0.52) B b	3.94 (0.77) B a	3.50 (0.20) B ab	0.70
HSD	0.91	0.40	0.53	0.62	
<u>Pulp firmness (N)</u>					
12 _{6d}	1.67 (0.40) A a	1.70 (0.28) A a	1.79 (0.39) A a	1.79 (0.17) A a	0.30
25 _{6d}	1.28 (0.49) B a	1.25 (0.46) B a	1.11 (0.48) B a	1.39 (0.60) B a	0.48
12 _{8-14d}	1.40 (0.23) AB ab	1.35 (0.22) B b	1.58 (0.19) A a	1.42 (0.14) B ab	0.19
HSD	0.34	0.29	0.32	0.32	
<u>Epicarp firmness (N)</u>					
12 _{6d}	2.36 (0.70) A ab	2.74 (0.80) A a	2.33 (0.62) A ab	2.05 (0.41) A b	0.61
25 _{6d}	1.50 (0.63) B a	1.62 (0.53) B a	1.33 (0.59) B a	1.69 (0.80) A a	0.67
12 _{8-14d}	1.96 (0.64) AB ab	2.34 (0.48) AB a	1.93 (0.65) A ab	1.81 (0.40) A b	0.52
HSD	0.56	0.61	0.53	0.49	

HSD: Honest significant difference (Tukey, $\alpha=0.05$). Different capital letters indicate a significant difference between the values of a column. Different lowercase letters indicate a significant difference between values of a row. Values between parentheses are standard deviation. Treatments: Eo, thyme essential oil emulsion at 1000 ppm; Gg, emulsion with 1% guar gum and 15% lipid phase; Gg+Eo, emulsion with 1% guar gum, 15% lipid phase, and 1000 ppm thyme essential oil.

3.6.3 Appearance

The initial appearance was rated with a value of 5, but this decreased over time and was affected by both thermal condition and treatments applied (Table 7). During the 6d-period, the appearance was between 3.75 and 4.00 in Control and equal to 3.38 in Eo fruits, without difference between temperatures. Coatings did not cause a beneficial effect at 25 °C but did at 12 °C, where Gg and Gg+Eo caused better appearance than the other two, and the contrast persisted during the 8-14d period with values of 3.94 and 3.50, respectively, which indicated a favorable effect on shelf-life lengthening. Most of the fruits stored at 25 °C presented fungal contamination on the sixth day of sampling, particularly of *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl, *Penicillium italicum* Raper & Thom, and *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.:Fr.) Vuill. (data not shown), which caused panelists to give low ratings for appearance; however, after epicarp removal, the pulp was observed without damage, so fruits could be destined to the extraction of several compounds, such as betalains as it was showed by Vargas-Campos et al. (2018).

3.6.4 Firmness

Epicarp and mesocarp firmnesses were 2.84 (± 0.14) and 1.86 (± 0.07) N, respectively, at the beginning. From there on, firmness diminished in fruits handled at 25 °C and values were within 1.11-1.39 and 1.33-1.69 N in mesocarp and epicarp, respectively, without difference among treatments during the 6d-period (Table 7). The refrigeration delayed softening since firmness in epicarp and mesocarp was in the range of 1.67-1.79 and 2.05-2.74 N, respectively, during the same 6d-period. The loss of firmness continued along time, and values were in the range of 1.35-1.58 and 1.81-2.34 N in mesocarp and epicarp during the 8-14d period at 12 °C. Fruit softening occurs mainly during the ripening process, but it continues during senescence, derived from the degradation of cell wall polymers and dissolution of the middle layer at tissue level (Valero and Serrano 2010). In the case of pulp, Gg treatment allowed fruits to have the highest firmness during the 8-14d period, which indicated a beneficial effect of using coatings based on guar gum-beeswax-oleic acid, because these modified the gas exchange capacity

of fruits and favored the lengthening of shelf life (Torres-León et al. 2018). However, in epicarp, the highest values occurred in Control and Eo treatments, which may have been associated with hardening derived from dehydration, since fruits showed the highest physiological weight loss.

3.6.5 Chemical variables

Total soluble solids (TSS), pH, and titratable acidity (TA) had initial values of 0.094% ($\pm 0.003\%$), 5.48 (± 0.04), and 12.68% ($\pm 0.21\%$), respectively. These properties were not significantly affected by temperature and storage time or treatment applied. Although some variations occurred (Table 8), these were small and may correspond to normal variability among fruits. Due to the non-climacteric character, pitaya fruits do not continue with ripening after harvest but rather lead to senescence, so TSS, pH, and TA remained constant throughout the storage. Pitaya can be classified as a fruit of low acidity, with a TSS/TA ratio of 117.8. The pitahaya fruit contains similar TSS but higher TA, with a TSS/TA ratio of 17.9 (Liu et al. 2019), so pitaya fruit is perceived with greater sweetness than pitahaya. The main components of soluble solids in fruits are glucose, fructose, and sucrose (Torres et al. 2013), and their combination is the cause of sweetness. Among organic acids, the most important in ripe fruits are malic, citric, tartaric, quinic, oxalic, fumaric, and succinic, contributing to the overall taste of fruits (Valero and Serrano 2010). The most important sugars and organic acids of pitaya fruits have not been identified yet; however, this species belongs to the Cactaceae family, and the photosynthesis process occurs through the Crassulaceae acid metabolism (CAM), where malic acid is an intermediary for the production of sugars (Andrade et al. 2007), thus the quantification of titratable acidity was expressed as a function of malic acid.

Table 8. Comparison of means of treatments corresponding to titratable acidity, pH, and total soluble solids in pitaya fruits during the first six days (subscript 6d) and between days eight and 14 (subscript 8-14d) of storage at 12 and 25 °C.

T _{period}	Treatment				HSD
	Control	Eo	Gg	Gg+Eo	
<u>Titratable acidity (%)</u>					
12 _{6d}	0.11 (0.03) A a	0.09 (0.02) A b	0.10 (0.02) A ab	0.09 (0.02) A b	0.020
25 _{6d}	0.07 (0.03) B a	0.09 (0.02) A a	0.08 (0.03) B a	0.08 (0.02) A a	0.023
12 _{8-14d}	0.08 (0.03) B a	0.09 (0.02) A a	0.09 (0.02) AB a	0.09 (0.01) A a	0.020
HSD	0.023	0.017	0.019	0.017	
<u>pH</u>					
12 _{6d}	5.60 (0.41) A a	5.64 (0.28) AB a	5.47 (0.36) A a	5.51 (0.28) A a	0.316
25 _{6d}	5.65 (0.40) A a	5.73 (0.38) A a	5.68 (0.39) A a	5.67 (0.38) A a	0.362
12 _{8-14d}	5.38 (0.37) A a	5.42 (0.35) B a	5.60 (0.40) A a	5.44 (0.33) A a	0.339
HSD	0.338	0.292	0.329	0.285	
<u>Total soluble solids (%)</u>					
12 _{6d}	10.96 (1.59) A b	12.66 (1.48) A a	11.58 (1.64) A ab	11.88 (1.45) A ab	1.44
25 _{6d}	11.63 (1.55) A a	10.59 (1.68) B a	11.28 (1.60) A a	11.69 (1.71) A a	1.53
12 _{8-14d}	11.23 (1.02) A a	10.72 (1.15) B ab	11.35 (1.20) A a	10.05 (0.91) B b	1.01
HSD	1.21	1.25	1.28	1.20	

HSD: Honest significant difference (Tukey, $\alpha=0.05$). Different capital letters indicate a significant difference between the values of a column. Different lowercase letters indicate a significant difference between values of a row. Values between parentheses are standard deviation. Treatments: Eo, thyme essential oil emulsion at 1000 ppm; Gg, emulsion with 1% guar gum and 15% lipid phase; Gg+Eo, emulsion with 1% guar gum, 15% lipid phase, and 1000 ppm thyme essential oil.

3.6.6 Bioactive compounds

The initial content of total soluble phenols (TSP) varied between 340 and 404 mg kg⁻¹, which was less than that reported by García-Cruz et al. (2016), which suggested that the chemical composition of pitaya fruits can vary significantly. According to Parra et al. (2012), the traditional classification of these fruits by color can be subdivided, explaining variations relative to previously published data. The use of refrigeration caused a reduction in TSP, but the effect was significant until de 8-14d in the Control treatment (Table 9).

Cold storage can alter the phenolic composition in fruits and vegetables. In some cases, new components are synthesized, and the concentration increases; in others, the content decreases due to the metabolism of fruits (Tomás-Barberan

et al. 2000). Fruits of the Eo treatment behaved similarly to those of Control, indicating that the essential oil did not alter any characteristic of fruits. In treatments Gg and Gg+Eo, a reduction of TSP was observed, and this occurred since the first 6d-period. However, the content was not modified with storage time, and values during the 8-14d period were statistically similar. Likewise, differences between values of this last period and those of handling at 25 °C were less than 3.5%. In fruits of garambullo (*Myrtillocactus geometrizans* (Mart. ex. Pfeiff.); Cactaceae) TSP decreased up to 70% during 15 d at 5 °C (Correa-Betanzo et al. 2011), which was almost three times higher than that of pitaya fruit. Similarly, TSP can diminish up to 75% in pitahaya along with a storage of 16 d at 20 °C (Zahid et al. 2013).

The red color in the flesh of pitaya fruits is caused by betalains (Vargas-Campos et al. 2018), whose content varied between 303 and 438 mg kg⁻¹ initially, coinciding with the value 424.6 mg kg⁻¹ reported by García-Cruz et al. (2016). The Control treatment material maintained betalains content without significant variation along with storage, which was also reported by García-Cruz et al. (2016) and Rosas-Benítez et al. (2016). In the case of fruits treated with coatings, some variations occurred along with storage, but without any trend, and, at the end of the 8-14d period, the content was similar to that of Control (Table 9). The present work focused on the red pitaya variant. The betaxanthins content was slightly higher than that of betacyanins at 1.1:1.0 ratio, which differed with the 3.2:1.0 ratios found in other red pitaya variants (García-Cruz et al. 2017). Likewise, in other cacti fruit, such as pitahaya, garambullo, and prickly pear, ratios of 1.0:2.9, 1.0:2.3, and 1.0:1.9 have been reported, respectively (López-Palestina et al. 2018; Ortega-Hernández et al. 2018; Wu et al. 2019), because the main pigments in these materials have been betacyanins. Other studies on *S. pruinosus* have identified betalains such as gomfrenin I, isogomfrenin I, 2-descarboxy-betanin, phylloactin, isofilocactin, 6'O-malonyl-2-descarboxy-betanin, 6'O-malonyl-2-descarboxy-isobetanin, indicaxanthin, isoindicaxanthin, and vulgaxanthin IV (García-Cruz et al. 2017).

Table 9. Comparison of means of treatments corresponding to the content of total soluble phenols, the content of total betalains, and antioxidant activity determined with the ABTS and FRAP assays in pitaya fruits during the first six days (subscript 6d) and between days eighth and 14 (subscript 8-14d) of storage at 12 and 25 °C.

T _{period}	Treatment				HSD
	Control	Eo	Gg	Gg+Eo	
Total soluble phenols (mg kg ⁻¹)					
12 _{6d}	328.19 (48.49) AB ab	341.93 (38.20) A a	318.05 (36.84) A ab	300.93 (32.86) A b	36.92
25 _{6d}	346.07 (30.89) A a	352.39 (31.41) A a	307.51(32.11) A b	320.33 (39.93) A a	32.52
12 _{8-14d}	301.87 (53.14) B a	319.14 (50.83) B a	318.08 (49.65) A a	302.57 (48.36) A a	47.20
HSD	38.73	31.05	34.46	35.02	
Total betalains (mg kg ⁻¹)					
12 _{6d}	332.41 (49.06) A a	359.09 (44.70) A a	340.98 (44.84) A a	334.13 (36.39) A a	41.10
25 _{6d}	347.55 (23.95) A a	351.18 (30.08) AB a	324.81 (25.42) AB a	324.88 (29.47) A a	25.36
12 _{8-14d}	326.03 (49.43) A a	320.50 (43.55) B a	308.62 (36.80) B a	318.32 (21.54) A a	36.66
HSD	36.44	34.11	31.33	25.50	
Antioxidant capacity (ABTS, mmol kg ⁻¹)					
12 _{6d}	3.92 (0.29) A a	3.90 (0.26) A a	3.96 (0.23) A a	3.94 (0.26) A a	0.243
25 _{6d}	3.90 (0.23) A a	3.90 (0.32) A a	3.89 (0.22) A a	3.92 (0.20) A a	0.228
12 _{8-14d}	3.94 (0.15) A a	3.93 (0.11) A a	3.98 (0.26) A a	3.89 (0.15) A a	0.163
HSD	0.195	0.209	0.204	0.177	
Antioxidant capacity (FRAP, mmol kg ⁻¹)					
12 _{6d}	1.32 (0.13) A a	1.37 (0.19) A a	1.24 (0.14) A a	1.27 (0.19) A a	0.154
25 _{6d}	1.31 (0.16) A a	1.29 (0.13) A a	1.17 (0.16) A a	1.26 (0.19) A a	0.152
12 _{8-14d}	1.33 (0.24) A a	1.41 (0.22) A a	1.27 (0.22) A a	1.24 (0.19) A a	0.204
HSD	0.156	0.157	0.153	0.164	

HSD: Honest significant difference (Tukey, $\alpha=0.05$). Different capital letters indicate a significant difference between the values of a column. Different lowercase letters indicate a significant difference between values of a row. Values between parentheses are standard deviation. Treatments: Eo, thyme essential oil emulsion at 1000 ppm; Gg, emulsion with 1% guar gum and 15% lipid phase; Gg+Eo, emulsion with 1% guar gum, 15% lipid phase, and 1000 ppm thyme essential oil.

3.6.7 Antioxidant capacity

The ABTS assay reported antioxidant activity (AC) between 3.40-3.80 mmol kg⁻¹ at the beginning and 3.67-4.20 mmol kg⁻¹ at the end of the storage time, although without significant contrast. There was no significant effect caused by temperature and by the treatment applied. At the end of the 8-14d period, there were no differences between treatments and, although AC showed high or low values on some days, there was not a clear trend. The FRAP assay indicated that AC varied within 1.05 and 1.72 mmol kg⁻¹ initially. No effect was observed due to temperature variation, storage time, or coating applied since values at the end of the 8-14d period were between 1.24 and 1.33 mg kg⁻¹ (Table 9). Although

betalains are compounds with high nutraceutical potential, the AC has been attributed more to phenolic compounds (García-Cruz et al. 2016; Rosas-Benítez et al. 2016). The values of AC measured by ABTS were different to those obtained with the FRAP procedure, due to the ABTS method measures the capacity of a compound to capture the radical ABTS^{•+} (Re et al. 1999), while FRAP evaluates the reducing capacity of Fe³⁺ to form Fe²⁺ (Benzie and Strain 1996).

3.7 Conclusions

Temperature was the main conservation factor of pitaya fruits since the physical, chemical, and phytochemical characteristics remained unchanged for eight more days at 12 °C relatives to the 25 °C condition. Coatings based on guar gum, beeswax, and oleic acid reduced weight loss in relation to fruits without coatings; besides, they allowed maintaining fresh appearance in fruits without the modification of quality attributes such as color, firmness, pH, TSS, and TA, contents of soluble phenols and betalains, and antioxidant capacity. Fruits were placed 24 h in refrigeration previous to the experiment. Thus, guar gum and beeswax coatings, combined with refrigeration at 12 °C, achieved the enlargement of pitaya fruits' shelf life for 15 d in postharvest.

3.8 Acknowledgement

Authors wish to acknowledge the financial support received from Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología of Mexico (CONACyT).

3.9 Literature cited

- Andrade JL, De la Barrera E, Reyes-García C, Ricalde MF, Vargas-Soto G, Cervera JC. 2007. El metabolismo ácido de las crasuláceas: diversidad, fisiología ambiental y productividad. Boletín de la Sociedad Botánica de México 81: 37–50. <http://doi.org/10.17129/botsoci.1764>
- Armella MA, Yanez-López L, Soriano J, Ramírez R. 2003. Phenology, postharvest physiology and marketing of pitaya (*Stenocereus griseus*, L.) as a sustainable resource. Acta Horticulturae 598: 251–254.

<http://doi.org/10.17660/ActaHortic.2003.598.37>

- Benzie IFF, Strain JJ. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 239: 70-76. <http://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Casas A, Otero-Arnaiz A, Pérez-Negrón E, Valiente-Banuet A. 2007. *In situ* management and domestication of plants in Mesoamerica. *Annals of Botany* 100: 1101–1115. <http://doi.org/10.1093/aob/mcm126>
- Castellanos-Santiago E, Yahia EM. 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. <http://doi.org/10.1021/jf800362t>
- Chuck-Hernández C, Parra-Saldívar R, Sandate-Flores L. 2015. Pitaya (*Stenocereus* spp.). In: Caballero B, Finglas PM, Toldrá F, editors. *Encyclopedia of food and health*. Elsevier Inc. P. 385–391. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00775-3>.
- Correa-Betanzo J, Jacob JK, Perez-Perez C, Paliyath G. 2011. Effect of a sodium caseinate edible coating on berry cactus fruit (*Myrtillocactus geometrizans*) phytochemicals. *Food Research International* 44: 1897–1904. <http://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2010.10.053>
- García-Cruz L, Dueñas M, Santos-Buelgas C, Valle-Guadarrama S, Salinas-Moreno Y. 2017. Betalains and phenolic compounds profiling and antioxidant capacity of pitaya (*Stenocereus* spp.) fruit from two species (*S. pruinosus* and *S. stellatus*). *Food Chemistry* 234: 111–118. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.174>
- García-Cruz L, Valle-Guadarrama S, Salinas-Moreno Y, Joaquín-Cruz E. 2013. Physical, chemical, and antioxidant activity characterization of pitaya (*Stenocereus pruinosus*) fruits. *Plant Foods for Human Nutrition* 68: 403–410. <http://doi.org/10.1007/s11130-013-0391-8>
- García-Cruz L, Valle-Guadarrama S, Salinas-Moreno Y, Luna-Morales C del C. 2016. Postharvest quality, soluble phenols, betalains content, and antioxidant

- activity of *Stenocereus pruinosus* and *Stenocereus stellatus* fruit. *Postharvest Biology and Technology* 111: 69–76.
<http://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.07.004>
- Hübert T, Lang C. 2012. Artificial fruit: Postharvest online monitoring of agricultural food by measuring humidity and temperature. *International Journal of Thermophysics* 33: 1606–1615. <http://doi.org/10.1007/s10765-011-1101-0>
- Liu R, Gao H, Chen H, Fang X, Wu W. 2019. Synergistic effect of 1-methylcyclopropene and carvacrol on preservation of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*). *Food Chemistry* 283: 588–595.
<http://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2019.01.066>
- López-Palestina CU, Aguirre-Mancilla CL, Raya-Pérez JC, Ramírez-Pimentel JG, Gutiérrez-Tlahque J, Hernández-Fuentes AD. 2018. The effect of an edible coating with tomato oily extract on the physicochemical and antioxidant properties of garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*) fruits. *Agronomy* 8: 248. <http://doi.org/10.3390/agronomy8110248>
- Martínez-Mendoza AA, Franco-Mora O, Sánchez-Pale JR, Rodríguez-Núñez JR, Castañeda-Vildózola Á. 2020. Evaluación de recubrimientos comestibles a base de pectina de tejocote (*Crataegus mexicana* Moñ. & Sess, ex DC., Rosaceae) en la poscosecha de tihuixocote (*Ximenia americana* L., Olacaceae). *Acta Agrícola y Pecuaria* 6: E0061004.
<https://doi.org/10.30973/aap/2020.6.0061004>
- Ortega-Hernández E, Welti-Chanes J, Jacobo-Velázquez DA. 2018. Effects of UVB light, wounding stress, and storage time on the accumulation of betalains, phenolic compounds, and ascorbic acid in red prickly pear (*Opuntia ficus-indica* cv. Rojo Vigor). *Food and Bioprocess Technology* 11: 2265–2274. <https://doi.org/10.1007/s11947-018-2183-5>
- Parra F, Blancas JJ, Casas A. 2012. Landscape management and domestication of *Stenocereus pruinosus* (Cactaceae) in the Tehuacán Valley: human guided selection and gene flow. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 8: 32. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-8-32>

- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* 26: 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Rives-Castillo SCH, Ventura-Aguilar RI, Hernández-López M, Bautista-Baños S. 2018. Evaluación de recubrimientos biodegradables para la conservación en fresco de jitomate Kenton. *Acta Agrícola y Pecuaria* 4: 80-91. <https://doi.org/10.30973/aap/2018.4.3/2>
- Rodríguez-Sánchez JA, Cruz y Victoria MT, Barragán-Huerta BE. 2017. Betaxanthins and antioxidant capacity in *Stenocereus pruinosus*: Stability and use in food. *Food Research International* 91: 63–71. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.11.023>
- Rosas-Benítez A, Trujillo-Cárdenas L, Valle-Guadarrama S, Salinas-Moreno Y, García-Cruz L. 2016. Quality attributes of pitaya (*Stenocereus pruinosus*) fruit handled in postharvest with and without thorns under refrigerated storage. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 22: 191–207. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2016.04.011>
- Sant'Anna V, Gurak PD, Marczak LDF, Tessaro IC. 2013. Tracking bioactive compounds with colour changes in foods – A review. *Dyes and Pigments* 98: 601–608. <https://doi.org/10.1016/J.DYEPIG.2013.04.011>
- Shirai K, Hernandez CG, Mejía P, Blanco S, Román-Guerrero A, Yañez L, Escalona-Buendía HB. 2016. Postharvest preservation of cactus fruits produced in semidesertic area of Oaxaca by biopolymer coatings. *The International Journal of Interdisciplinary Social Sciences: Annual Review* 11: 15–26. <http://doi.org/10.18848/1833-1882/CGP/15-26>
- Singleton VL, Rossi JA. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16: 144–158.
- Tomás-Barberan FA, Ferreres F, Gil MI. 2000. Antioxidant phenolic metabolites from fruit and vegetables and changes during postharvest storage and processing. *Studies in Natural Products Chemistry* 23: 739–795.

[https://doi.org/10.1016/S1572-5995\(00\)80141-6](https://doi.org/10.1016/S1572-5995(00)80141-6)

- Torres R, Montes EJ, Pérez OA, Andrade RD. 2013. Relación del color y del estado de madurez con las propiedades fisicoquímicas de frutas tropicales. *Informacion Tecnológica* 24: 51–56. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642013000300007>
- Torres-León C, Vicente AA, Flores-López ML, Rojas R, Serna-Cock L, Alvarez-Pérez OB, Aguilar CN. 2018. Edible films and coatings based on mango (var. Ataulfo) by-products to improve gas transfer rate of peach. *LWT - Food Science & Technology* 97: 624–631. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.07.057>
- Valero D, Serrano M. 2010. *Postharvest biology and technology for preserving fruit quality*. Taylor & Francis. Florida, USA.
- Valle-Ortiz DJ, Gómez-Cruz A, Hernández-Fuentes AD, Valle-Guadarrama S. 2019. Microbial control in white cactus pear with biopolymeric coating of chitosan, candelilla wax and thyme essential oil. *Revista Fitotecnia Mexicana* 42: 201–207. <https://doi.org/10.35196/rfm.2019.3.201-207>
- Vargas-Campos L, Valle-Guadarrama S, Martínez-Bustos F, Salinas-Moreno Y, Lobato-Calleros C, Calvo-López AD. 2018. Encapsulation and pigmenting potential of betalains of pitaya (*Stenocereus pruinosus*) fruit. *Journal of Food Science and Technology* 55: 2436–2445. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3161-7>
- Wu Y, Xu J, He Y, Shi M, Han X, Li W, Zhang X, Wen X. 2019. Metabolic profiling of pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) during fruit development and maturation. *Molecules* 24: 1114. <https://doi.org/10.3390/molecules24061114>
- Zahid N, Ali A, Siddiqui Y, Maqbool M. 2013. Efficacy of ethanolic extract of propolis in maintaining postharvest quality of dragon fruit during storage. *Postharvest Biology and Technology* 79: 69–72. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.01.003>.

4 SEPARATION OF PITAYA (*Stenocereus pruinosus*) BETAXANTHINS, BETACYANINS, AND SOLUBLE PHENOLS THROUGH MULTISTAGE AQUEOUS TWO-PHASE SYSTEMS

4.1 Abstract

Pitaya (*Stenocereus pruinosus*) fruits, particularly those of the red variant, contain betalains that can be used to pigment foods and provide tonalities in the range of red-purple to orange-yellow. If betalains are separated into betacyanins (Bc) and betaxanthins (Bx), the potential for using them can be improved. Betalains are usually mixed with sugars, which limit their use since sugars can alter sensorial properties, and with other bioactive compounds, such as polyphenols, which can be beneficial due to their antioxidant potential. The objective was to separate betalains and soluble phenols from pitaya fruits and conduct the partition of betalains into Bc and Bx by multistage aqueous two-phase systems (ATPS). Pulp of pitaya fruits (294.25 µg/g betalains, 146.63 µg/g soluble phenols, and 34.31 mg/g sugars) were processed at 25 °C with ATPS prepared with 6.57-34.05% sodium citrate (Na₃Cit) and 4.21-60.54% 1-propanol. Soluble phenols and sugars remained mainly in the bottom phases of ATPS with concentrations of 69.33-190.90 µg/mL and 20.89-45.88 mg/mL, respectively. The extraction efficiency of betalains was higher than 90% and these were separated into Bc and Bx, where Bc concentrated in the bottom phase and Bx in the top phase. Fractions with Bx/Bc ratios of 10.25 and 0.46 were obtained through multistage processing of top and bottom phases, which allowed recoveries of 45.94% Bx and 53.93% Bc, although the latter was in mixture with low concentrations of soluble phenols and sugars. ATPS has the potential to separate betacyanins and betaxanthins from pitaya fruits.

Kew words: Aqueous two-phase systems, betalain partitioning, pitaya fruit polyphenols, sugar elimination from pigmen

Thesis of Ph.D. in Ciencias Agroalimentarias, Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo.

Author: M. C. Leticia García Cruz

Thesis Director: Dr. Salvador Valle Guadarrama

SEPARACIÓN DE BETAXANTINAS, BETACIANINAS Y FENOLES SOLUBLES DE PITAYA (*Stenocereus pruinosus*) MEDIANTE SISTEMAS ACUOSOS EN DOS FASES EN MULTITETAPA

4.2 Resumen

Los frutos de la pitaya (*Stenocereus pruinosus*), especialmente los de la variante roja, contienen betalaínas que pueden utilizarse para pigmentar los alimentos y proporcionar tonalidades en el intervalo del rojo-morado al naranja-amarillo. Si las betalaínas se separan en betacianinas (Bc) y betaxantinas (Bx), se puede mejorar su potencial de uso. Las betalaínas suelen mezclarse con azúcares, lo que limita su uso ya que los azúcares pueden alterar las propiedades sensoriales, y con otros compuestos bioactivos, como los polifenoles, que pueden ser beneficiosos por su potencial antioxidante. El objetivo fue separar las betalaínas y los fenoles solubles de los frutos de pitaya y llevar a cabo la partición de las betalaínas en Bc y Bx mediante sistemas acuosos bifásicos (ATPS). La pulpa de los frutos de pitaya (294.25 µg/g de betalaínas, 146.63 µg/g de fenoles solubles y 34.31 mg/g de azúcares) se procesó a 25 °C con ATPS preparados con 6.57-34.05 % de citrato de sodio (Na₃Cit) y 4.21-60.54 % de 1-propanol. Los fenoles y azúcares solubles permanecieron principalmente en las fases inferiores del ATPS con concentraciones de 69.33-190.90 µg/mL y 20.89-45.88 mg/mL, respectivamente. La eficiencia de extracción de las betalaínas fue superior al 90 % y éstas se separaron en Bc y Bx, donde Bc se concentró en la fase inferior y Bx en la superior. Se obtuvieron fracciones con relaciones Bx/Bc de 10.25 y 0.46 mediante el procesamiento multitapa de las fases superior e inferior, lo que permitió recuperaciones del 45.94 % de Bx y del 53.93 % de Bc, aunque esta última se encontró en mezcla con bajas concentraciones de fenoles solubles y azúcares. El ATPS tiene el potencial de separar betacianinas y betaxantinas de los frutos de pitaya.

Palabras clave: eliminación de azúcares del pigmento, partición de betalaínas, polifenoles de frutos de pitaya, Sistemas acuosos bifásicos.

Tesis de Doctorado en Ciencias Agroalimentarias, Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo.

Autor: M. C. Leticia García Cruz

Director de tesis: Dr. Salvador Valle Guadarrama

4.3 Introduction

Pitaya (*Stenocereus pruinosus*) is a columnar cactus that grows in desertic areas and produces thorny fruits whose pulp can be white, orange, pink, purple or red (Parra et al., 2012). The production of pitaya fruits in Mexico is over 5,800 ton (SIAP, 2019). Their color is caused by pigments known as betalains, which are classified into two groups: betaxanthins, which are yellow compounds derived from the condensation of betalamic acid with different amines or amino acids, and betacyanins, which are red-violet substances produced from the condensation of betalamic acid with cyclo-dihydroxyphenylalanine (cyclo-DOPA) (Gandía-Herrero and García-Carmona, 2013).

Food, cosmetic, textile, and pharmaceutical industries are increasingly searching for natural pigments (Aruldass et al., 2018), and betalains are good candidates, since they can provide several tonalities from yellow-orange (Phuhongsung et al., 2020) to red-purple (Mohammed et al., 2021; Utpott et al., 2020), depending on the proportion of betacyanins and betaxanthins (Sandate-Flores et al., 2020). Furthermore, betalains can be used to increase the nutraceutical potential of food products, due to properties that reduce the risk of contracting several diseases (Song et al., 2016).

Beetroot (*Beta vulgaris*) is an important source of betalains (Durge et al., 2013; Mohammed et al., 2021), with levels over 12 mg/g dry weight (dw) (García-Cruz et al., 2013). However, beetroot also contains geosmin (4.3-33.8 µg/kg), a terpene derivative that produces an earthy flavor (Maher and Goldman, 2017), which can limit the use of beetroot in foods, since geosmin can be detected at levels as low as 5-50 ng/L (Liato and Aider, 2017). Cacti fruits can be used as well as sources of betalains, specifically those of the genera *Opuntia* (Aparicio-Fernández et al., 2018; Betancourt et al., 2017), *Hylocereus* (Leong et al., 2018; Utpott et al., 2020), *Stenocereus* (García-Cruz et al., 2017), and *Myrtillocactus* (Guzmán-Maldonado et al., 2010). Nonetheless, the content of betalains in cacti fruits is less than beetroot, since 0.24 mg/g fresh weight (fw) were found in *Opuntia dillenii*

(Betancourt et al., 2017), 1.81-2.66 mg/g dw in *Opuntia ficus-indica* (García-Cayuela et al., 2019), 0.17 mg/g fw in *Hylocereus* spp. (Liaotrakoon et al., 2013), 0.04 mg/g fw in *Myrtillocactus geometrizans* (Guzmán-Maldonado et al., 2010), and 6.07 mg/g dw in *Stenocereus pruinosus* (García-Cruz et al., 2013).

The use of betalains has been focused mainly on their stability preservation through drying (Gokhale and Lele, 2012), nano emulsification (Mohammed et al., 2021), and encapsulation (Utpott et al., 2020), or through the control of pH (Durge et al., 2013; Phuhongsung et al., 2020) and temperature (Liaotrakoon et al., 2013) during industrial processing. The control of the color provided by betalains, through the modification of the proportion of betaxanthins and betacyanins in the source material, has been scarcely studied. Betalain separation into betaxanthins and betacyanins can be attended through chromatography (Betancourt et al., 2017; Pires-Gonçalves et al., 2012); however, other techniques exist, such as the aqueous two-phase systems (ATPS), that have proven to be a simpler and more efficient alternative (Raja et al., 2011).

ATPS can be formed with two polymers, a polymer and a salt (Rosa et al., 2010), or an organic solvent and a salt (Leong et al., 2018). Polymers have included polyethylene glycol (PEG), dextran (Rosa et al., 2010), poly(ethylene oxide) (da Rocha et al., 2011), and polyvinyl pyrrolidone (Sadeghi and Maali, 2016). Among salts, ammonium sulphate, magnesium sulphate, and sodium citrate have been used (Leong et al., 2018), while among organic solvents are acetone (Rodríguez-Salazar and Valle-Guadarrama, 2020), methanol, ethanol, and propanol (Leong et al., 2018). Based on the concentrations of each component, the blend causes a transition from one phase to two immiscible phases between which the target compounds are separated (Raja et al., 2011). A salting-out phenomenon is implied in the two-phase formation. In cases based on a salt, as the concentration increases the interaction of the second component (a polymer or an organic solvent) with water diminishes, reducing hydrophilicity (Gomes et al., 2017)

Chetana et al. (2007) proposed an ATPS, based on PEG 6000 and ammonium sulphate, to separate betalains from beetroot. Chandrasekhar et al. (2015) purified beetroot betaxanthins with this system, although betacyanins were not evaluated. Moreover, Vargas-Campos et al. (2018) separated betalains from fruits of *Stenocereus pruinosus* with the same system and proved their potential as pigmenting agents. Nonetheless, the risk of residual ammonium ions can limit the use in foods. Sandate-Flores et al. (2020) used PEG 1000 and potassium phosphate to purify betaxanthins, but betacyanins were not evaluated either and, according to Chetana et al. (2007), a high pH (7.2) is induced with this salt, causing degradation of betalains. Jiménez-Velázquez et al. (2020) suggested sodium citrate for food applications, but such salt may also induce a high pH (8.0) and affect the stability of betalains (Chetana et al., 2007), implying that a strategy to reduce the time of exposing the target compounds to non-favorable conditions should be applied. On the other hand, all of these proposals have used PEG, which remains in mixture with betalains and its elimination is difficult (Vargas-Campos et al., 2018). Alternatively, Leong et al. (2018) used an ATPS of propanol-salt to obtain a fraction rich in betacyanins from *Hylocereus* fruits, where the propanol could be eliminated through evaporation, but betaxanthins were not assessed either.

The partitioning of betalains into betacyanins and betaxanthins may be done with a multistage ATPS strategy (Chandrasekhar et al., 2015). However, up to now, there is lack of methodologies to obtain both fractions from a betalains extract, one rich in betacyanins and the other rich in betaxanthins. The pitaya (*Stenocereus pruinosus*) fruit, particularly the red variant, possesses high content of betalains with a balanced proportion of betacyanins and betaxanthins (García-Cruz et al., 2013); therefore, it constitutes an adequate alternative to attend the partitioning of betalains. However, pitaya fruit contains a high concentration of sugars, ranging from 72.0 to 99.0 g/kg (García-Cruz et al., 2016), where more than 90% are reducing sugars (Yáñez-López et al., 2005). This could limit the use of betalains in food products due to a risk for people with diabetes and sensorial properties could be altered. In this regard, the ATPS technique has the potential

to eliminate sugars from fruit extracts (Chetana et al., 2007; Sandate-Flores et al., 2020; Vargas-Campos et al., 2018). Polyphenols can also be found in combination with betalains in pitaya fruits, particularly hydroxycinnamoyl derivatives, flavanols, and flavanones (García-Cruz et al., 2017), and ATPS can be used likewise to extract polyphenols from plant tissue (Rodríguez-Salazar and Valle-Guadarrama, 2020). Nonetheless, when this has been the case, polyphenols have been obtained mainly in the same phase as betalains (Leong et al., 2018, 2019). In fact, there are no reports focused on the separation of betalains and polyphenols through ATPS. The antioxidant potential of pitaya fruits is mainly determined by phenolic compounds (García-Cruz et al., 2013) and their application in foods, together with betalains, could fulfill the dual purpose of serving as pigmenting agents and contributing to the increase of the nutraceutical potential. In this context, the objective of the present study was to separate soluble phenols and betalains from pitaya fruits and conduct the partitioning of betalains into betacyanins and betaxanthins.

4.4 Materials and methods

4.4.1 Research organization

Three phases were developed. First, a binodal phase diagrams was constructed to aid separation processes. Second, the separation of betalains, soluble phenols, and sugars was evaluated at different conditions of ATPS. Third, the partitioning of betalains into betacyanins and betaxanthins was studied with multistage ATPS.

4.4.2 Plant material

Pitaya fruits (*Stenocereus pruinosus*) of the red variant, cultivated in Huitziltepec, Puebla, Mexico (18° 35' 46" N and 97° 55' 48" W; 1940 masl), were used. The peel and seeds of the fruits were removed, and the pulp was stored at -20 °C until use.

4.4.3 Binodal phase diagram construction

Solutions of anhydrous sodium citrate ($\text{Na}_3\text{C}_3\text{H}_5\text{O}(\text{COO})_3$; Na_3Cit) at 40% (w/w) and 1-propanol at 70% (w/w) were prepared with deionized water. The cloud point titration method was applied at 25 °C in two stages to construct a binodal phase diagram (Rodríguez-Salazar and Valle-Guadarrama, 2020) and find concentrations at which two phases were formed. Five grams of the propanol solution were placed in a 70-mL tube (Pyrex®) and Na_3Cit solution was added dropwise with agitation until a cloudy appearance was suddenly obtained. Then, deionized water was added until reaching transparency. The process was repeated by adding again Na_3Cit until obtaining turbidity, and then deionized water until transparency, as many times as needed. Afterwards, the procedure was done in the inverse order, i.e., beginning with Na_3Cit and adding the propanol solution dropwise. The weight after each mass addition was recorded with an analytical balance (Ohaus, USA). The binodal concentrations of Na_3Cit (x_S^{bin}) and propanol (y_P^{bin}) were determined at each step with mass balances based on Equations 1 and 2, as described by Rodríguez-Salazar and Valle-Guadarrama (2020), to determine biphasic equilibrium data, where $x_{S,i}$ and $y_{P,i}$ are the concentrations of Na_3Cit and 1-propanol obtained in a mixture i , ($x_{S,i-1}$, $x_{P,i-1}$) are concentrations of Na_3Cit and 1-propanol in a previous mixture $i-1$, ($x_{S,0}$, $x_{P,0}$) are concentrations in the original solutions, m_{i-1} is the total mass in the mixture $i-1$, and w_P , w_S , and w_H are the added masses of propanol, Na_3Cit , and water, respectively, to mixture i . Binodal data were adjusted to Equation 3, where k_1 , k_2 , and k_3 are regression parameters (Merchuk et al. 1998).

$$x_S^{bin} (\%) = x_{S,i} = \frac{(x_{S,i-1}/100) (m_{i-1}) + (x_{S,0}/100) (w_S)}{m_{i-1} + w_S + w_P + w_H} \quad (1)$$

$$y_P^{bin} (\%) = y_{P,i} = \frac{(y_{P,i-1}/100) (m_{i-1}) + (y_{P,0}/100) (w_P)}{m_{i-1} + w_S + w_P + w_H} \quad (2)$$

$$y_P^{bin} = k_1 e^{(k_2 (x_S^{bin})^{0.5} - k_3 (x_S^{bin})^3)} \quad (3)$$

The results of Equation 3 were plotted to visualize the binodal curve of the Na_3Cit -propanol system. The conditions on the binodal curve with the highest

concentration of alcohol and the highest concentration of salt were identified as $A(x_S^{min}, y_P^{max})$ and $B(x_S^{max}, y_P^{min})$ and a main tie line (A-B line) was plotted with them, with slope k_4 (Equation 4).

$$k_4 = \frac{y_P^{min} - y_P^{max}}{x_S^{max} - x_S^{min}} \quad (4)$$

The derivative of Equation 3 was obtained and was equaled to the slope k_4 (Equation 5) to obtain the concentration of Na₃Cit that corresponded to the critical point C (x_S^C), which is the concentration at which a tie line has zero length. The concentration of propanol at the critical point C (y_P^C) was determined with Equation 3 after the substitution of (x_S^C).

$$\frac{dy_P^{bin}}{dx_S^{bin}} = \frac{d(k_1 e^{(k_2(x_S^{bin})^{0.5} - k_3(x_S^{bin})^3)})}{dx_S^{bin}} = k_4 \quad (5)$$

Finally, a parallel line to the main tie line was plotted between the condition C and the binodal curve, whose intersection points with the binodal curve were found at conditions named D and E, respectively, and constituted a secondary tie line (D-E line) (Jiménez-Velázquez et al., 2020). All measurements were made at 25 (±1) °C.

4.4.4 Aqueous two-phase systems

Five points on the main tie line (A-B line) and four points on the secondary tie line (D-E line) were selected from the Na₃Cit-propanol phase diagram. The corresponding ATPS were prepared at 25 °C with total mass of 20 g. Each system was incorporated with 3 g of pitaya fruits. The blend was stirred in a vortex (Vortex Genie 2, Mod. G560, USA) for 10 s. ATPS were left to stand for 1 h in the dark and then centrifuged at 11,000×g for 5 min (Ependorff, Mod. 5804, Germany). Two liquid phases were formed: a top phase (t), formed mainly by propanol, and a bottom phase (b), formed mainly by Na₃Cit. ATPS were also prepared without pulp incorporation, to evaluate the effect of adding solid material. The phases were separated, and their volumes and weights were measured with a graduated cylinder and an analytical balance (Ohaus, USA), respectively. The contents of betalains, total soluble phenols, and total sugars were also determined (see

section *Quantification of concentrations*). A volume ratio (V_r) was obtained dividing the volume of the top propanol-rich phase (V_t) by the volume of the bottom salt-rich phase (V_b) (Equation 6). Separation yields of compounds in top (Y_t) and bottom phases (Y_b) were calculated with Equations 7 and 8, respectively (Chandrasekhar et al. 2015).

$$V_r = \frac{V_t}{V_b} \quad (6)$$

$$Y_t = \frac{C_t * V_t}{C_t * V_t + C_b * V_b} * 100 \quad (7)$$

$$Y_b = \frac{C_b * V_b}{C_t * V_t + C_b * V_b} * 100 \quad (8)$$

The extraction efficiency of betalains (E_b , %) was evaluated by placing three grams of macerated pulp in an Erlenmeyer flask with 20 mL of methanol 80% (v/v). Samples were sonicated for 10 min in a Branson® bath (USA), stirred in the dark for 20 min at room temperature, and centrifuged at 2,200×g for 10 min (Ependorff, Mod. 5804, Germany). The supernatant was recovered, and a similar second extraction was done to the residue. Supernatants were pooled, filtered (Whatman paper no. 4), concentrated at 40 °C in a rotary evaporator (Laborata 4010, Germany), re-suspended in 10 mL of methanol 80%, and subjected to quantification of betacyanins, betaxanthins, and total betalains (sum of betacyanins and betaxanthins). E_b was calculated with Equation 9, where c_b^t and c_b^b are betalain concentrations (mg/L) in the top and bottom phases, respectively, V_e is the volume of the extract (L), and c_{etb} is the content of total betalains in the extract (mg/L).

$$E_b = \frac{c_b^t V_t + c_b^b V_b}{(c_{etb})(V_e)} \times 100 \quad (9)$$

4.4.5 Quantification of concentrations

Concentrations of betacyanins (Bc) and betaxanthins (Bx) (c ; mg/L) were determined with the procedure described by Stintzing et al. (2005), with a DR 500 UV-vis HACH spectrophotometer (Germany) calibrated with propanol during the

analyses of the top phase and with water during the analyses of the bottom one. Equation 10 was used, where A is absorbance at 540 nm for Bc and at 488 nm for Bx, DF is a dilution factor, ε is the molar extinction coefficient (60,000 L/mol·cm for betanin and 48,000 L/mol·cm for indicaxanthin), L is length of the cell (1 cm), and MW is molecular weight (550 g/mol for betanin and 308 g/mol for indicaxanthin), which was used to convert from molar to mass units.

$$c = \frac{A * DF * MW * 1000}{\varepsilon * L} \quad (10)$$

Total soluble phenols (TSP) content was determined with the Folin-Ciocalteu (FC) reactant method (Singleton and Rossi, 1965), where 100 μ L of the top or bottom phases of the ATPS were mixed with 125 μ L of FC (1 N). Then, 1,250 μ L of Na_2CO_3 at 19% (w/v) were added, followed by adjustment of the volume to 3 mL with distilled water. The blend was left to rest in the dark at 20 ($\pm$ 1) $^\circ\text{C}$ for 90 min. In the case of the top phases, centrifugation was applied (Ependorff, Mod. 5804, Germany) at 11,000 $\times$ g for 5 min to eliminate turbidity produced by precipitation of sodium carbonate. Absorbance (A) was measured at 760 nm with a DR 500 UV-vis HACH spectrophotometer (Germany). A calibration curve (Equation 11) was constructed with eight solutions of gallic acid in the range of 20 to 160 $\mu\text{g/mL}$ with high linear correlation ($R^2 = 0.9965$). The curve was employed to estimate the concentration of TSP (c_{TSP}) in micrograms of gallic acid equivalents per milliliter ($\mu\text{g/mL}$).

$$c_{TSP} = 0.0034 A - 0.0156 \quad (11)$$

The phenol-sulfuric acid method was applied as described by Nowotny (1979), with some modifications, to determine total sugar content. From each phase of ATPS, 100 μ L were taken and mixed with 500 μ L of 5% phenol in test tubes. Subsequently, 2,500 μ L of concentrated sulfuric acid were added. The solution was left to react for 15 min and absorbance (A) was read at 490 nm in a DR 500 UV-vis HACH spectrophotometer (Germany). A calibration curve (Equation 12) was constructed with eight solutions of glucose in the range of 0.1 to 0.8 mg/mL with high linear correlation ($R^2 = 0.9824$). The curve was utilized to evaluate the

concentration of total sugars (c_{sug}) in milligrams of glucose equivalents per milliliter (mg/mL).

$$c_{sug} = 1.8416 A + 0.0619 \quad (12)$$

4.4.6 Partition of betacyanins and betaxanthins using ATPS

The condition corresponding to the state A on the main A-B tie line was used to carry out the partition of Bc and Bx, through multistage ATPS (Chandrasekhar et al., 2015). After one separation, the bottom phase was recovered and mixed with the top phase obtained from an ATPS prepared *de novo* with the original composition of state A. The mixture was stirred for 10 s in a vortex (Vortex Genie 2, Mod. G560, USA) and was left to rest for 1 h to allow phase equilibrium. Afterwards, centrifugation was applied at 11,000×g for 5 min (Ependorff, Mod. 5804, Germany) and the phases were separated. This procedure was repeated until five separations were performed (Fig. 5). On the other hand, the top phase of the first separation was reprocessed once, with the addition of a bottom phase obtained from an ATPS prepared *de novo* with the original composition of state A. Contents and separation yields of Bc and Bx were evaluated at each stage.

4.4.8 Data analysis

Data were analyzed considering the tie line (A-B and D-E) and the condition on the tie line (A, 1, 2, 3, 4) as variation factors. Analyses of variance (ANOVA) and treatment means comparison routines were performed using the Tukey's test ($p \leq 0.05$). All measurements were done in triplicate. Analyses were performed with the SAS program (SAS Institute Inc. 1999).

4.5 Results and discussion

4.5.1 Binodal phase diagram

The cloud point method allowed obtaining binodal data (Fig. 6A), which fitted well to Equation 1 ($R^2 = 0.9575 \pm 0.004$). Values of constants k_1 , k_2 , and k_3 had a value of 121.013 (± 33.050), -0.265 (± 0.1009), and 4.590×10^{-5} ($\pm 1.530 \times 10^{-5}$), respectively. Equation 1 was used to construct the binodal curve and the regions where the systems formed one phase or two immiscible phases were delimited (Fig. 6B). In the latter case, a top phase, formed mainly by 1-propanol, and a bottom phase, formed mainly by Na₃Cit, were identified. Based on experimental data, the conditions on the binodal curve with the highest concentration of 1-propanol (point A) and the highest concentration of Na₃Cit (point B) were determined (Table 10); hence, the main tie line (A-B line) was plotted with a slope of -2.05 (Fig. 6B). The diagram corresponding to the blend Na₃Cit-propanol was also reported by Wei-Ooi et al. (2009), where the highest 1-propanol concentration was about 32.0%, contrasting with 60.6% obtained in the present work, which allowed selecting a more adequate ATPS to separate betalains from pitaya fruits. The critical point was located at condition C (21.76, 21.90%). The shortest distance that joined the critical point C with the main tie line was a perpendicular line with a slope of +1/2.05, which indicated that, as a condition is farther from the binodal curve, the Na₃Cit concentration increased 2.05 times faster than 1-propanol. Then, a secondary tie line was plotted between C and the binodal curve, with intersections with the latter at conditions D and E (Table 10). Four equidistant points, identified with the numbers 1, 2, 3, and 4, were selected

on both tie lines, and represented mixtures with the composition described in Table 10. The behavior of the ATPS at state A was also evaluated on the A-B line. The transition from point A to point 4 on the A-B line implied an increment in the Na₃Cit concentration from 6.57 to 28.57% and a decrement in 1-propanol from 60.54 to 15.46%. In the case of the D-E line, the transition from point 1 to point 4 implied an increase in Na₃Cit from 15.75 to 25.77% and a decrease in 1-propanol from 36.72 to 16.17% (Table 10).

Table 10. Concentrations (%) of sodium citrate (Na₃Cit) and 1-propanol corresponding to conditions of the aqueous two-phase systems (ATPS) identified on the binodal phase diagram.

Condition	Main tie line (A-B line)		Secondary tie line (D-E line)	
	Na ₃ Cit	1-Propanol	Na ₃ Cit	1-Propanol
A	6.57	60.54	--.--	--.--
B	34.05	4.21	--.--	--.--
D	--.--	--.--	12.41	43.57
E	--.--	--.--	29.11	9.33
1	12.07	49.27	15.75	36.72
2	17.57	38.00	19.09	29.87
3	23.07	26.73	22.43	23.01
4	28.57	15.46	25.77	16.17

4.5.2 Volume phase ratio

The addition of pitaya pulp did not affect the volume ratio (V_r) ($p > 0.05$; Fig. 6C); therefore, the liquid retained by the residual solid after the centrifugation step was negligible. V_r diminished as the concentration of 1-propanol decreased and Na₃Cit increased, indicating that the top phase volume diminished and the bottom phase volume increased. V_r was significantly smaller ($p \leq 0.05$) in ATPS of the D-E line than in those of the A-B line, which suggested that the closeness to the binodal curve favored the increment of the bottom phase volume and the reduction of the top phase volume. However, the ATPS tended to have similar values in the lower region of the tie lines and the difference was not significant between states 4 ($p > 0.05$). Conditions A, 1, and 2 on the A-B line had a top phase with greater volume than the bottom phase, since the former had V_r higher than 1.0. In contrast,

conditions 3 and 4 corresponded to ATPS that had a top phase smaller than the bottom phase. In the case of the D-E line, most ATPS showed top phases with smaller volume than the bottom phases (Fig. 6C).

4.5.3 Total soluble phenols

The content of total soluble phenols (TSP) was higher ($p \leq 0.05$) in the bottom saline phase than in the top alcoholic one. This contrasted with other works, where ATPS were developed likewise with Na₃Cit but with PEG (Jiménez-Velázquez et al., 2020) or acetone (Rodríguez-Salazar and Valle-Guadarrama, 2020) instead of 1-propanol, and the TSP migrated mainly to the top phase of these systems. The formation of a biphasic system in ATPS is caused by a salting-out effect on the polymer or the organic solvent, derived from the interaction of the salt with water (Gomes et al., 2017). The same phenomenon affects the migration of soluble phenols to the top or the bottom phase of systems (Jiménez-Velázquez et al., 2020). The concentration ranges of Na₃Cit, PEG, and acetone that were used in the mentioned works were similar to those employed in the present study for Na₃Cit and 1-propanol. Thus, the affinity of soluble phenols to 1-propanol was less than with PEG or acetone, causing soluble phenols to remain in the bottom phase. As Na₃Cit increased and 1-propanol decreased, the TSP concentration decreased in the bottom phase, with values of 190.90 (± 6.3), 140.51 (± 12.40), 97.96 (± 1.96), 81.39 (± 1.62), and 69.33 (± 1.11) $\mu\text{g/mL}$ at conditions A, 1, 2, 3, and 4 of the A-B line, respectively, with significant differences between them ($p \leq 0.05$) (Fig. 6D). TSP values in the top phase of ATPS of the A-B line varied between 15.80 (± 3.43) and 33.75 (± 1.48) $\mu\text{g/mL}$, but without significant differences ($p > 0.05$). This situation, and the fact that the top phase volume decreased with the transition from point A to point 4, indicated that the decrement of TSP concentration in the bottom phase was caused by a dilution effect and not by a migration to the top phase. TSP concentrations in the bottom phases of the A-B line were significantly higher than those of the D-E line (Fig. 6D), with values of 98.31 (± 3.96), 80.60 (± 2.23), 76.98 (± 7.73), and 63.84 (± 2.03) $\mu\text{g/mL}$ at conditions 1, 2, 3 and 4, respectively. This variation was considered small and

concurred with the small variation of V_r in ATPS of the D-E line; hence, TSP variation in the bottom phase depended more on the phase volume than on the migration to the top phase, where the concentration ranged from 14.89 (± 2.29) to 24.70 (± 3.06) $\mu\text{g/mL}$. The antioxidant potential of pitaya fruits is largely caused by polyphenols (García-Cruz et al., 2013) and the results of the present work showed that they can be partitioned to the bottom phase of an ATPS formed by Na_3Cit and 1-propanol. In this regard, phenolic compounds, such as flavonols, flavanones, and phenolic acids, have been found in fruits of *S. pruinosa* (García-Cruz et al., 2017).

4.5.4 Total sugars

Total sugars were significantly higher in the bottom phase than the top phase of the ATPS ($p \leq 0.05$) (Fig. 6E). Concentrations in the bottom phases of the A-B line were 45.88 (± 5.36), 36.88 (± 4.00), 29.33 (± 5.93), 26.99 (± 1.34), and 20.89 (± 2.22) mg/mL at conditions A, 1, 2, 3, and 4, respectively, while the D-E line produced concentrations of 26.59 (± 4.96), 24.97 (± 2.14), 22.09 (± 2.83) and 19.83 (± 0.95) mg/mL at points 1, 2, 3 and 4, respectively. This suggested that, as a condition is farther from the binodal curve, the migration of sugars to the bottom phase is favored. In addition, the transition from the upper to the lower regions of the tie lines caused reduction of total sugars in the bottom phase, although this could be due to a dilution effect. The sugar concentrations in the top phase were 95-97% less than the bottom phase. In the top phases of the A-B line, total sugar content ranged from 2.09 (± 0.14) mg/mL to 0.53 (± 0.09) mg/mL at positions A and 4, respectively (Fig. 6E). Meanwhile, in the top phases of the D-E line, concentrations went from 0.94 (± 0.03) mg/mL to 0.64 (± 0.04) mg/mL at positions 1 and 4, respectively, but, although the decreasing tendency was significant, it was considered without practical relevance. This result agreed with other studies, where it has been found that sugars commonly remain in the saline phase of ATPS, which has been used as a strategy to eliminate them from extracts (Sandate-Flores et al., 2020; Vargas-Campos et al., 2018).

4.5.5 Separation of betacyanins and betaxanthins

The betalain extraction efficiency (E_b) was higher in ATPS of the A-B line than those of the D-E line, except at condition 4, where the behavior was opposite (Fig. 7). Values on the A-B line varied between 87.1 (± 3.7) and 91.5% (± 2.9) in blends at conditions A, 1, 2, and 3 without significant differences ($p > 0.05$). These values were considered acceptably high and expressed the percentage of betalains that can be extracted with ATPS relative to an exhaustive procedure based on methanol. Nonetheless, E_b decreased up to 79.1% (± 1.7) at condition 4. The transition between states A and 4 was characterized by a reduction of 1-propanol, which, together with water, constituted the extraction solvent, and data showed that this was enough quantity to maintain high extraction efficiency at conditions A to 3. However, the excessive reduction of 1-propanol and the increment of Na₃Cit at condition 4 reduced significantly the solubilization capacity of the ATPS. Values were between 78.9 (± 4.3) and 80.5% (± 4.9) at states 1, 2, and 3 of the D-E line, without significant difference ($p > 0.05$), while E_b was 84.9% (± 1.2) at condition 4, which was significantly higher ($p \leq 0.05$).

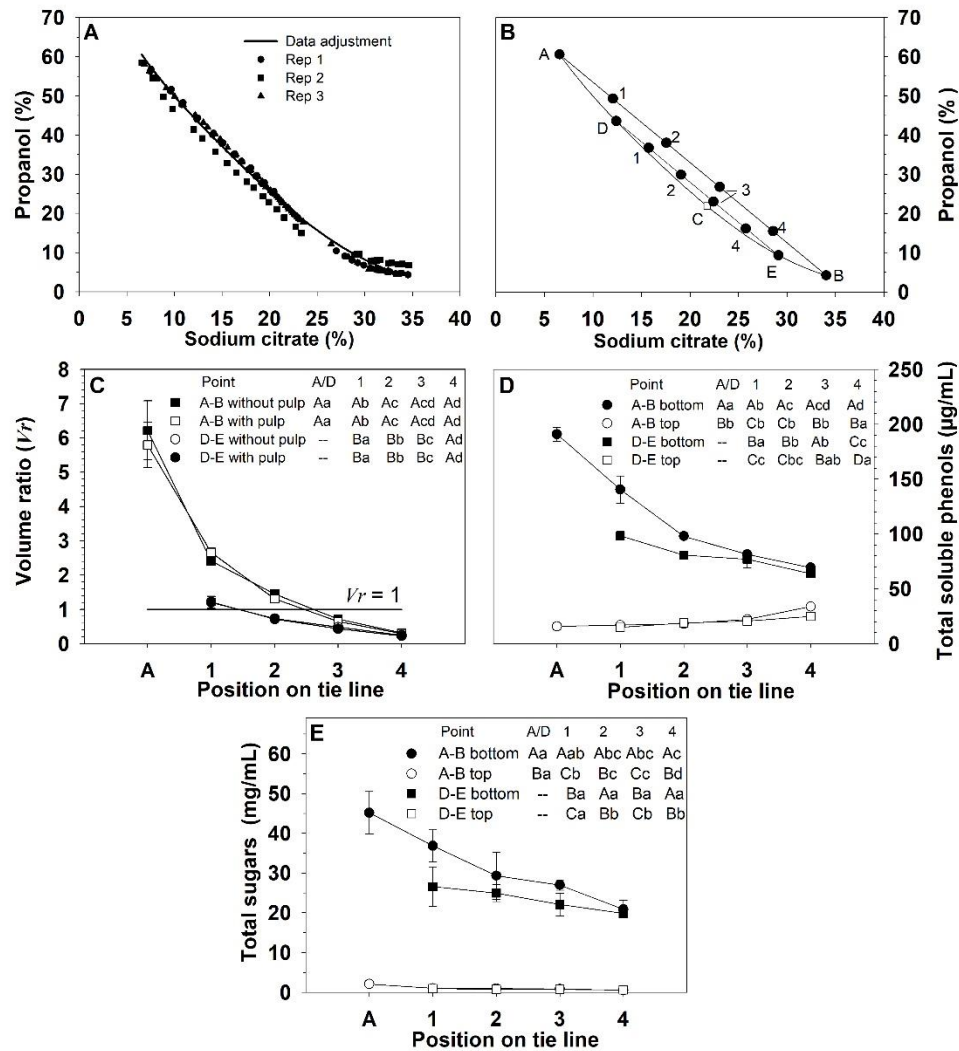


Fig.6 Experimental data and adjustment to Merchuk et al. (1998) equation (**A**), binodal phase diagram (**B**), volume ratio (**C**), total soluble phenols concentration (**D**), and total sugars in top and bottom phases (**E**), corresponding to A-B and D-E tie lines. Capital letters indicate significant difference at each evaluated position. Small letters indicate significant difference within each tie line (Tukey, $p \leq 0.05$). Error bars indicate standard deviation.

As the tie lines get closer to the binodal curve, the Na_3Cit concentration decreases 2.05 times faster than that of 1-propanol, which causes that the salt/propanol ratio in the D-E line to be lower than that of the A-B line. In addition, the bottom phase volume was greater at point 4, and the fact that the solid material was mainly

retained in that phase before being removed, indicated that water acted as the main extraction agent of betalains at such state. The contact time between the extraction fluid and the solid was equal to 1 h before separation by centrifugation. This contact time was established through several screening trials (data not shown), where the complete biphasic condition was achieved after 10 h with static systems.

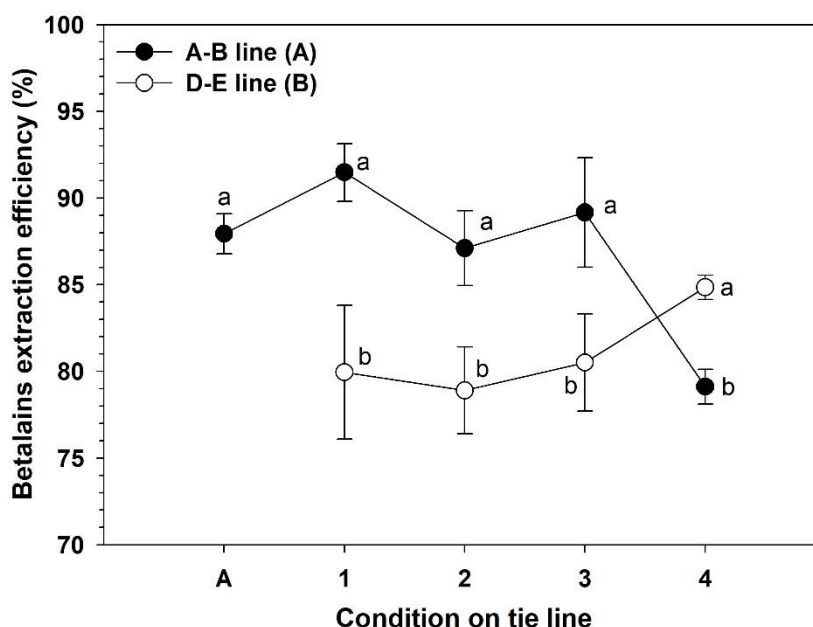


Fig. 7 Extraction efficiency of betalains based on Na₃Cit-propanol systems. Different capital letters indicate significant difference between tie lines. Different small letters indicate significant difference within each tie line (Tukey, $p \leq 0.05$). Error bars indicate standard deviation.

Betacyanins (Bc) and betaxanthins (Bx) were affected differently, since Bc were found at higher concentrations than Bx in the bottom phase, while Bx were in greater concentration in the top phase (Fig. 8), which suggested that an ATPS based on 1-propanol and Na₃Cit has the potential to favor the partitioning of betalains into Bc and Bx. The case of Bc coincided with results of Leong et al. (2018, 2019) where, from samples of dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*), the use of propanol favored these compounds to remain in the saline phase of systems. On the other hand, the highest total concentration of betalains was found in the

bottom phase of the ATPS (Fig. 8), which contrasted with the results of Chandrasekhar et al. (2015), Chetana et al. (2007), and Sandate-Flores et al. (2020), who obtained the highest concentrations in the top phases with ATPS of PEG and ammonium sulphate, magnesium sulphate, and potassium phosphate, respectively.

The content of Bc in the bottom phases of the A-B line varied from 122.6 (± 2.64) mg/L to 33.0 (± 1.21) mg/L at positions A and 4, respectively (Fig. 8B). In the case of Bx, the content ranged from 103.42 (± 0.98) to 33.79 (± 1.30) mg/L, and both Bc and Bx concentrations were statistically different ($p \leq 0.05$) along tie lines. Regarding the D-E line, Bc and Bx concentrations showed less pronounced changes when moving along tie lines, since the contents at conditions 2, 3, and 4 were not statistically different (Fig. 7), which could be due to similarity in phase volumes. Bx levels ranged from 6.62 (± 0.05) to 3.21 (± 0.06) mg/L in the top phases of the A-B line with significant differences between all points (Fig. 8A). Meanwhile, Bc values varied from 1.59 (± 0.1) to 0.58 (± 0.01) mg/L. Furthermore, the concentration of Bx ranged from 5.17 (± 0.36) to 3.87 (± 0.07) mg/L in the top phases of the D-E line with a decreasing tendency from the upper region to the lower region of the line. On the other hand, Bc content varied from 0.85 (± 0.08) to 0.63 (± 0.04) at conditions 1 and 4, respectively, in the top phase of the D-E line and, although the tendency was significant (Fig. 8), the variation was considered of no practical relevance.

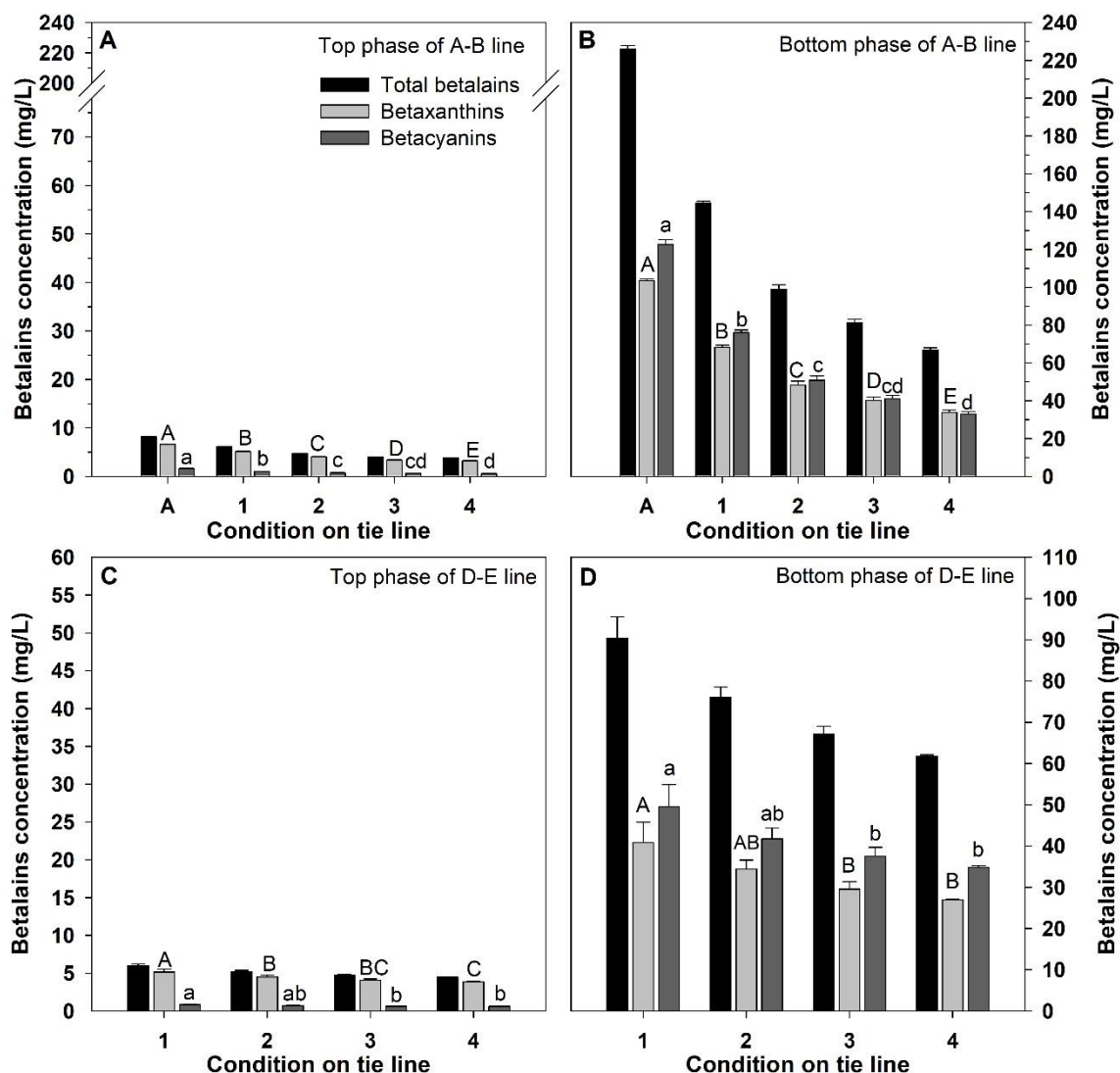


Fig. 8 Concentration of total betalains, betaxanthins, and betacyanins in the top and bottom phases of the A-B tie line (**A**, **B**) and top and bottom phases of D-E tie line (**C**, **D**) of the aqueous two-phase systems (ATPS). Different capital letters indicate significant difference in betacyanin content with respect to the evaluated positions (Tukey, $p \leq 0.05$). Error bars indicate standard deviation.

4.5.6 Multistage ATPS processing

Condition A was used to perform a multistage ATPS processing of pitaya extracts. This condition was composed of 6.57% Na_3Cit and 60.54% 1-propanol and constituted the blend with the highest concentration of alcohol and the lowest of salt in the phase diagram working area (Fig. 6B). A first separation stage produced

a TSP concentration of 17.84 (± 1.35) and 177.93 (± 10.20) $\mu\text{g/mL}$ in the top and bottom phases, respectively. However, the volume ratio (V_r) indicated that the top phase was 5.97 times greater than the bottom phase. The separation yield (Y_t, Y_b), determined by Equations 7 and 8, showed that 62.54% TSP remained in the bottom phase and 37.46% migrated to the top phase of the ATPS. Due to this behavior, when the recovered bottom phase was reprocessed four more times by mixing it with a new top phase at each step (Fig. 5), the TSP content gradually decreased in the bottom phase to 160.41 (± 10.2), 115.27 (± 3.35), 101.84 (± 3.41), and 74.22 (± 4.54) $\mu\text{g/mL}$ after the second, third, fourth, and fifth separation, respectively. In the case of total sugars, the first stage generated a concentration of 1.88 (± 0.03) and 43.14 (± 2.47) mg/mL in the top and bottom phases, respectively, and the separation yields showed that 20.66% of the sugars migrated to the top phase and 79.34% remained in the bottom phase. Therefore, the reprocessing of the bottom phase gradually decreased the sugar concentration as well with values of 37.00 (± 2.19), 33.45 (± 3.50), 22.41 (± 0.83), and 19.14 (± 0.28) mg/mL after the second, third, fourth, and fifth separation, respectively.

A partitioning phenomenon was observed in betalains from the first extraction. Based on concentration modifications (Table 11), the proportion B_x/B_c in the first separation was 3.72 and 0.82 in the top and bottom phases, respectively. When the separated top phase was mixed with a bottom phase that came from an ATPS prepared *de novo* (Fig. 5) with the composition of state A, a second separation produced a B_x/B_c ratio of 10.25 and 2.65 in the top and bottom phases, respectively, which indicated that the Na_3Cit -propanol system has the potential to purify B_x with the top phase. On the other hand, when the bottom phase of the first separation was blended with a top phase obtained from an ATPS prepared *de novo* with the composition of state A (Fig. 5), a second separation produced a proportion B_x/B_c of 2.58 and 0.67 in the top and bottom phases, respectively. Further processing of the bottom phase produced a B_x/B_c ratio in the top and bottom phases of 1.74 and 0.50, 1.23 and 0.50, and 0.89 and 0.46 after the third,

fourth, and fifth separation, respectively, which suggested that, through a multistage processing of the bottom phase, Bc can be purified. Besides, all separations showed a similar volume ratio (V_r) of 5.71 (± 0.24).

Final fractions (mixtures M_3 and M_{14} ; Fig. 5) were analyzed with HPLC at 480 and 530 nm, which correspond to the maximum absorption wavelengths of Bc and Bx, respectively. M_3 was obtained after two separations of the top phase, and the analysis showed only one peak at 480 nm with a retention time of 10.33 min, while no peak was observed at 530 nm (data not shown). This indicated the presence of only Bx in the top phase. Meanwhile, M_{14} was obtained after five separations of the bottom phase, and the analysis showed the presence of four compounds at 530 nm and five at 480 nm, which suggested the presence of four Bc (peaks 1, 3, 4, and 5) and one Bx (peak 6) in the bottom phase, the latter with only 3.6% (± 0.47) of relative area (Fig. 9). García Cruz et al. (2017) reported that, in *S. pruinosa* fruits, the most abundant Bc were gomphrenin I and isogomphrenin, while in the Bx group, the most abundant were indicaxanthin and its respective isomer.

In the ATPS, the top phase was formed mostly by 1-propanol and in the bottom phase prevailed water and Na_3Cit . Propanol is not ionized, and only its hydroxyl group can form hydrogen bonds with water, while Na_3Cit is ionized, which produces ion-dipole interactions with water. Hence, the bottom phase had higher polarity than the top phase. Bc, having three carboxyl groups and five alcoholic groups (Fig. 10), exhibit higher polarity than Bx, explaining the tendency of Bc to migrate to the bottom phase and Bx to the top phase.

Chandrasekhar et al. (2015) used ATPS based on PEG 6000 and ammonium sulphate to separate betalains and found that the highest concentrations of both Bc and Bx occurred in the top phase, and only the bottom phase was utilized for purification of Bx, while the purification of Bc was not attended. Thus, an ATPS based on 1-propanol and Na_3Cit constitutes a better alternative for the partition of

betalains, since both, top and bottom phases, were used for a purification strategy, where the former was focused on Bx and the latter on Bc. However, more research is required to identify the compounds that remain in each phase and quantify their concentration.

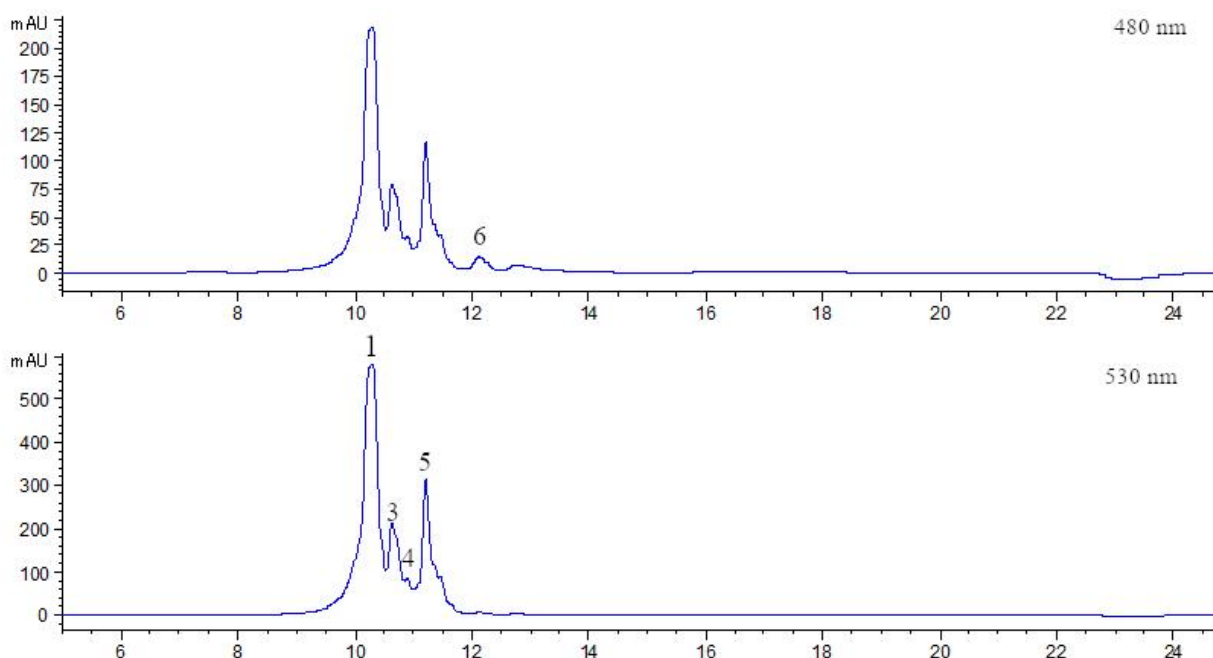


Fig.9 HPLC chromatograms corresponding to the bottom phase of the fifth separation (mixture M14, Fig. 5) obtained at 480 and 530 nm. mAU: miliabsorbance units. Numbers correspond to identified compounds.

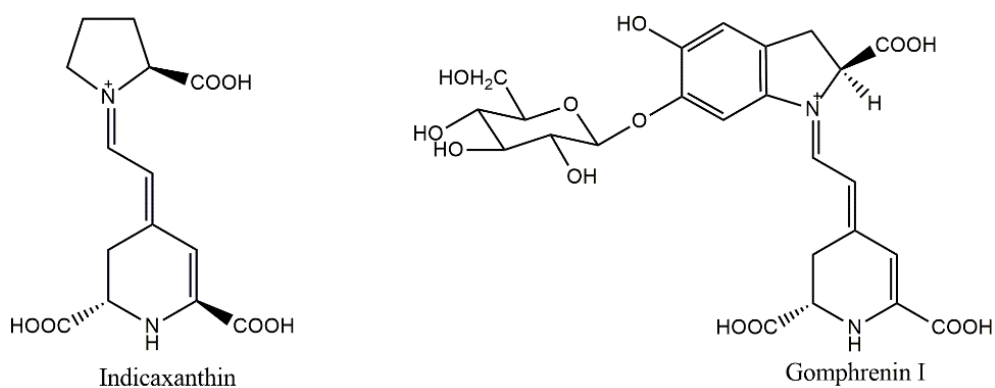


Fig. 10 Chemical structure of indicaxanthin and gomphrenin I.

The separation yield of Bx and Bc was evaluated in both phases (Y_t, Y_b ; Table 11). During the first separation, 28.1% of Bx remained in the top phase and 82.6% of this amount was recovered in the top phase after a second separation. Therefore, 23.21 mg per 100 mg of Bx were recovered in the top phase after two sequential separations. On the other hand, the first separation allowed the recovery of 92.06% of Bc in the bottom phase, while the yield of the four subsequent separations was 88.42, 87.59, 86.42, and 87.52%, respectively (Table 11). Thus, 53.93 mg per 100 mg of Bc were recovered after five sequential separations. Meanwhile, other blends that were not used for obtaining the final products, including M₄, M₅, M₉, M₁₁, and M₁₃ (Fig. 5), were also generated with this multistage strategy, which suggests that an optimization of the process should be attended. In this regard, if mixture M₅ is reprocessed, the blend M₇ can be generated, which possesses a similar composition as mixture M₃ (Table 11). Combining M₃ and M₇ would yield 42.93 mg/100 mg of Bx instead of 23.21 mg/100 mg, implying that reprocessing only one intermediate mixture would increase 45.94% the separation yield of Bx. Phuhongsung et al. (2020) and Utpott et al. (2020) used extracts of beetroot (*Beta vulgaris*) and pitahaya (*Hylocereus polyrhizus*) fruits to obtain betalains as pigmenting agents of food products. Both studies sought to take advantage of the red color of the extracts given by a greater presence of Bc than Bx. The results of the present work demonstrated that the partitioning of betalains into Bc and Bx is technically feasible through ATPS based on Na₃Cit and 1-propanol. However, some aspects need to be attended, particularly the optimization of the process to recirculate intermediate mixtures, the evaluation of the required amounts of the extracts to provide desired levels of pigmentation, and the assessment of the stability of betalains during the process. In addition, the economic feasibility must be studied, considering that each separation stage requires the use of centrifugal equipment to reduce processing times, which aids in the prevention of betalains from being exposed to unsuitable conditions for prolonged periods.

Table 11. Concentration (C, µg/mL) and yield (Y, %) during multistage separation of betaxanthins (Bx) and betacyanins (Bc).

Variable	1st separation		2nd separation		3rd separation		4th separation		5th separation	
	Bx	Bc	Bx	Bc	Bx	Bc	Bx	Bc	Bx	Bc
C _t	6.63	1.78	C _t	2.87	0.28					
M ₁	(0.18)	(0.20)	M ₃	(0.14)	(0.01)					
Y _t	28.09	7.94	Y _t	82.64	55.18					
	(1.15)	(0.95)		(2.34)	(0.13)					
			C _b	3.42	1.29					
			M ₄	(0.27)	(0.22)					
			Y _b	17.36	44.82					
				(2.34)	(0.13)					
C _b	101.38	123.14	C _t	5.54	2.15	C _t	2.20	0.21		
M ₂	(2.90)	(1.90)	M ₅	(0.14)	(0.09)	M ₇	(0.05)	(0.01)		
Y _b	71.91	92.06	Y _t	33.41	11.58	Y _t	82.10	43.14		
	(1.15)	(0.95)		(0.74)	(0.21)		(2.97)	(0.33)		
						C _b	2.72	1.57		
						M ₈	(0.16)	(0.26)		
						Y _b	17.90	56.86		
							(2.97)	(0.33)		
			C _b	59.62	89.07	C _t	3.50	2.01		
			M ₆	(2.70)	(8.40)	M ₉	(0.2)9	(0.10)		
			Y _b	66.59	88.42	Y _t	30.11	12.41		
				(0.74)	(0.21)		(0.36)	(0.84)		
						C _b	47.38	83.26		
						M ₁₀	(3.90)	(7.60)		
						Y _b	69.89	87.59		
							(0.36)	(0.84)		
						C _t	2.33	1.89		
						M ₁₁	(0.12)	(0.05)		
						Y _t	28.13	13.58		
							(2.09)	(1.36)		
						C _b	34.60	69.82	C _t	1.49
						M ₁₂	(3.40)	(5.76)	M ₁₃	(0.08)
						Y _b	71.87	86.42	Y _t	21.67
							(2.09)	(1.36)		(0.85)
									C _b	30.03
									M ₁₄	(1.30)
									Y _b	78.33
										(0.85)
										(0.63)

Subindex t and b refer to top and bottom phases of ATPS, respectively. Values in parentheses are standard deviation. Letters M identify mixtures.

4.6 Conclusions

The mixture of Na₃Cit and 1-propanol can form ATPS as a function of their concentrations. The system exhibited potential to separate betalains from pitaya fruits between the top and bottom phases, since Bc tended to concentrate in the bottom phase and Bx in the top phase. A multistage processing generated fractions with Bx/Bc ratios of 10.25 and 0.46 based on ATPS that contained 6.57-60.54% of Na₃Cit-propanol. The process allowed an extraction efficiency higher than 90% and a recovery of 45.94 and 53.93% of the initial Bx and Bc, respectively, although the latter in mixture with low concentrations of soluble phenols and sugars. The multistage ATPS has the potential to process *Stenocereus pruinosus* fruits and increase their value by recovering betalains and partitioning them into Bc and Bx.

4.7 References

- Aparicio-Fernández, X., Vega-Ahuatzin, A., Ochoa-Velasco, C. E., & Cid-Pérez, S. (2018). Physical and antioxidant characterization of edible films added with red prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L.) cv. San Martín peel and/or its aqueous extracts. *Food and Bioprocess Technology*, 11(1144), 368–379. <https://doi.org/10.1007/s11947-017-2017-x>
- Aruldass, C. A., Dufossé, L., & Ahmad, W. A. (2018). Current perspective of yellowish-orange pigments from microorganisms- a review. *Journal of Cleaner Production*, 180, 168–182. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.01.093>
- Betancourt, C., Cejudo-Bastante, M. J., Heredia, F. J., & Hurtado, N. (2017). Pigment composition and antioxidant capacity of betacyanins and betaxanthins fractions of *Opuntia dillenii* (Ker Gawl) Haw cactus fruit. *Food Research International*, 101, 173–179. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.007>
- Chandrasekhar, J., Sonika, G., Madhusudhan, M. C., & Raghavarao, K. S. M. S. (2015). Differential partitioning of betacyanins and betaxanthins employing aqueous two phase extraction. *Journal of Food Engineering*, 144, 156–163.

<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.07.018>

- Chetana, S., Nayak, C. A., & Raghavarao, K. S. M. S. (2007). Aqueous two phase extraction for purification and concentration of betalains. *Journal of Food Engineering*, 81(4), 679–687. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.12.021>
- da Rocha, P. P., Barbosa, M. A., Rodrigues, D. L. L., Moreira, M. C. R., & Mendes, S. L. H. Hespanhol, D. S. M. C. (2011). Fluid Phase Equilibria Phase diagram and thermodynamic modeling of PEO + organic salts + H₂O and PPO + organic salts + H₂O aqueous two-phase systems. *Fluid Phase Equilibria*, 305, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2011.02.013>
- Durge, A. V., Sarkar, S., Survase, S. A., & Singhal, R. S. (2013). Impact of extrusion on red beetroot colour used as pre-extrusion colouring of rice flour. *Food and Bioprocess Technology*, 6(2), 570–575. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0723-3>
- Gandía-Herrero, F., & García-Carmona, F. (2013). Biosynthesis of betalains: yellow and violet plant pigments. *Trends in Plant Science*, 18(6), 334–343. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2013.01.003>
- García-Cayuela, T., Gómez-Maqueo, A., Guajardo-Flores, D., Welti-Chanes, J., & Cano, M. P. (2019). Characterization and quantification of individual betalain and phenolic compounds in Mexican and Spanish prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L. Mill) tissues: A comparative study. *Journal of Food Composition and Analysis*, 76, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2018.11.002>
- García-Cruz, L., Dueñas, M., Santos-Buelgas, C., Valle-Guadarrama, S., & Salinas-Moreno, Y. (2017). Betalains and phenolic compounds profiling and antioxidant capacity of pitaya (*Stenocereus* spp.) fruit from two species (*S. Pruinusus* and *S. stellatus*). *Food Chemistry*, 234, 111–118. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.174>
- García-Cruz, L., Valle-Guadarrama, S., Salinas-Moreno, Y., & Joaquín-Cruz, E. (2013). Physical, chemical, and antioxidant activity characterization of pitaya (*Stenocereus pruinosus*) fruits. *Plant Foods for Human Nutrition*, 68(4), 403–410. <https://doi.org/10.1007/s11130-013-0391-8>

- García-Cruz, L., Valle-Guadarrama, S., Salinas-Moreno, Y., & Luna-Morales, C. del C. (2016). Postharvest quality, soluble phenols, betalains content, and antioxidant activity of *Stenocereus pruinosus* and *Stenocereus stellatus* fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 111, 69–76. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.07.004>
- Gokhale, S. V., & Lele, S. S. (2012). Optimization of convective dehydration of *Beta vulgaris* for color retention. *Food and Bioprocess Technology*, 5(3), 868–878. <https://doi.org/10.1007/s11947-010-0359-8>
- Gomes, J., Ferreira, S., Reinert, O., Gandol, R., Ayra, L., Santos, V., et al. (2017). Fluid phase equilibria evaluation of salting-out effect in the liquid e liquid equilibrium of aqueous two-phase systems composed of 2-propanol and Na₂SO₄/MgSO₄ at different temperatures. *Fluid Phase Equilibria*, 450, 184–193. <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2017.08.001>
- Guzmán-Maldonado, S. H., Herrera-Hernández, G., Hernández-López, D., Reynoso-Camacho, R., Guzmán-Tovar, A., Vaillant, F., & Brat, P. (2010). Physicochemical, nutritional and functional characteristics of two underutilised fruit cactus species (*Myrtillocactus*) produced in central Mexico. *Food Chemistry*, 121, 381–386. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.12.039>
- Jiménez-Velázquez, P., Valle-Guadarrama, S., Alia-Tejacal, I., Salinas-Moreno, Y., García-Cruz, L., Pérez-López, A., & Guerra-Ramírez, D. (2020). Separation of bioactive compounds from epicarp of ‘Hass’ avocado fruit through aqueous two-phase systems. *Food and Bioprocess Technology*, 123, 238–250. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.07.004>
- Leong, H. Y., Ooi, C. W., Law, C. L., Julkifle, A. L., Katsuda, T., & Show, P. L. (2019). Integration process for betacyanins extraction from peel and flesh of *Hylocereus polyrhizus* using liquid biphasic electric flotation system and antioxidant activity evaluation. *Separation and Purification Technology*, 209, 193–201. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2018.07.040>
- Leong, H. Y., Ooi, C. W., Law, C. L., Julkifle, A. L., Ling, T. C., & Show, P. L. (2018). Application of liquid biphasic flotation for betacyanins extraction from

- peel and flesh of *Hylocereus polyrhizus* and antioxidant activity evaluation. *Separation and Purification Technology*, 201, 156–166. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2018.03.008>
- Liaotrakoon, W., de Clercq, N., van Hoed, V., van de Walle, D., Lewille, B., & Dewettinck, K. (2013). Impact of thermal treatment on physicochemical, antioxidative and rheological properties of white-flesh and red-flesh dragon Fruit (*Hylocereus* spp.) purees. *Food and Bioprocess Technology*, 6(2), 416–430. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0722-4>
- Liato, V., & Aider, M. (2017). Geosmin as a source of the earthy-musty smell in fruits, vegetables and water: Origins, impact on foods and water, and review of the removing techniques. *Chemosphere*, 181, 9–18. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.04.039>
- Maher, L., & Goldman, I. L. (2017). Bidirectional recurrent half-sib family selection for geosmin concentration in table beet. *Crop Science*, 57(5), 2564–2574. <https://doi.org/10.2135/cropsci2017.02.0111>
- Merchuk, J. C., Andrews, B. A., & Asenjo, J. A. (1998). Aqueous two-phase systems for protein separation Studies on phase inversion. *Journal of Chromatography B*, 711, 285–293. [https://doi.org/10.1016/S0378-4347\(97\)00594-X](https://doi.org/10.1016/S0378-4347(97)00594-X)
- Mohammed, A. N., Ishwarya, S. P., & Nisha, P. (2021). Beetroot extract: comparison of physicochemical characteristics and betalain stability. *Food and Bioprocess Technology*, 14(1), 133–150. <https://doi.org/10.1007/s11947-020-02562-2>
- Nowotny, A. (1979). Carbohydrate determination by phenol-sulfuric acid. In *Basic Exercises in Immunochemistry* (pp. 171–173). Berlin: Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-67356-6_52
- Parra, F., Blancas, J. J., & Casas, A. (2012). Landscape management and domestication of *Stenocereus pruinosus* (Cactaceae) in the Tehuacán Valley: human guided selection and gene flow. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 8, 32. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-8-32>
- Phuhongsung, P., Zhang, M., & Devahastin, S. (2020). influence of surface ph on

- color, texture and flavor of 3D printed composite mixture of soy protein isolate, pumpkin, and beetroot. *Food and Bioprocess Technology*, 13(9), 1600–1610. <https://doi.org/10.1007/s11947-020-02497-8>
- Pires-Gonçalves, L. C., De Souza-Trassi, M. A., Barbosa-Lopes, N., Dörr, F. A., Teixeira dos Santos, M., Baader, W. J., Oliveira, V. X., & Leite-Bastos, E. (2012). A comparative study of the purification of betanin. *Food Chemistry*, 131, 231–238. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.067>
- Raja, S., Murty, V. R., Thivaharan, V., Rajasekar, V., & Ramesh, V. (2011). Aqueous two phase systems for the recovery of biomolecules – a review. *Science and Technology*, 1(1), 7–16. <https://doi.org/10.5923/j.scit.20110101.02>
- Rodríguez-Salazar, N., & Valle-Guadarrama, S. (2020). Separation of phenolic compounds from roselle (*Hibiscus sabdariffa*) calyces with aqueous two-phase extraction based on sodium citrate and polyethylene glycol or acetone. *Separation Science and Technology (Philadelphia)*, 55(13), 2313–2324. <https://doi.org/10.1080/01496395.2019.1634730>
- Rosa, P. A. J., Ferreira, I. F., Azevedo, A. M., & Aires-Barros, M. R. (2010). Aqueous two-phase systems: A viable platform in the manufacturing of biopharmaceuticals. *Journal of Chromatography A*, 1217(16), 2296–2305. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.11.034>
- Sadeghi, R., & Maali, M. (2016). Toward an understanding of aqueous biphasic formation in polymer-polymer aqueous systems. *Polymer*, 83, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2015.11.032>
- Sandate-Flores, L., Rodríguez-Rodríguez, J., Velázquez, G., Mayolo-Deloisa, K., Rito-Palomares, M., Torres, J. A., & Parra-Saldívar, R. (2020). Low-sugar content betaxanthins extracts from yellow pitaya (*Stenocereus pruinosis*). *Food and Bioprocess Technology*, 121, 178–185. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.02.006>
- SAS Institute Inc. (1999). *SAS/STAT® User's Guide, Version 8*. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- SIAP (2019). Servicio de información agroalimentaria y pesquera. México:

- Gobierno de México. <https://www.gob.mx/siap>.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144–158.
- Song, H., Chu, Q., Xu, D., Xu, Y., & Zheng, X. (2016). Purified betacyanins from *Hylocereus undatus* peel ameliorate obesity and insulin resistance in high-fat-diet-fed mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(1), 236–244. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b05177>
- Stintzing, F. C., Herbach, K. M., Mosshammer, M. R., Carle, R., Yi, W., Sellappan, S., et al. (2005). Color, betalain pattern, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia* spp.) clones. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 442–451. <https://doi.org/10.1021/jf048751y>
- Utpott, M., Assis, R. Q., Pagno, C. H., Pereira Krigger, S., Rodrigues, E., de Oliveira Rios, A., & Hickmann Flôres, S. (2020). Evaluation of the use of industrial wastes on the encapsulation of betalains extracted from red pitaya pulp (*Hylocereus polyrhizus*) by spray drying: powder stability and application. *Food and Bioprocess Technology*, 13(11), 1940–1953. <https://doi.org/10.1007/s11947-020-02529-3>
- Vargas-Campos, L., Valle-Guadarrama, S., Martínez-Bustos, F., Salinas-Moreno, Y., Lobato-Calleros, C., & Calvo-López, A. D. (2018). Encapsulation and pigmenting potential of betalains of pitaya (*Stenocereus pruinosus*) fruit. *Journal of Food Science and Technology*, 55(7), 2436–2445. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3161-7>
- Wei-Ooi, C., Ti-Tey, B., Ling-Hii, S., Mustapa-Kamal, S. M., Lan-Wei, J. C., Ariff, A., & Chuan-Ling, T. (2009). Purification of lipase derived from *Burkholderia pseudomallei* with alcohol/salt-based aqueous two-phase systems. *Process Biochemistry*, 44, 1083–1087. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2009.05.008>
- Yáñez-López, L., Domínguez, J., Fajardo, M. C., Malpico, F., Soriano, J., Pelayo, C., ... Díaz-de-León, F. (2005). Quality Attributes Domínguez, J., & Fajardo, M. C. (2005). Quality attributes of different types of cactus pitaya fruits (*Stenocereus griseus*). *Acta Horticulturae*, 682, 645–650.

<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2005.682.83>

5 POTENCIAL PIGMENTANTE DE BETACIANINAS Y BETAXANTINAS SEPARADAS CON SISTEMAS ACUOSOS BIFÁSICOS DE FRUTOS DE PITAYA (*Stenocereus pruinosus*)

5.1 Resumen

El fruto de pitaya (*Stenocereus* spp.) es una fuente de betalaínas que pueden usarse para proveer tonalidades que van del rojo-violeta al amarillo, pero debe atenderse el fraccionamiento en betacianinas y betaxantinas, además de la reducción del contenido de azúcares. El objetivo del trabajo fue evaluar el uso de extractos de betalaínas de frutos de pitaya con distinta tonalidad y bajo contenido de azúcares en la pigmentación de matrices alimenticias. La técnica de extracción acuosa en dos fases (ATPE), basada en 1-propanol y citrato de sodio, fue aplicada en etapas múltiples para obtener fracciones ricas en betaxantinas y betacianinas. Posteriormente, se usó un sistema ATPE basado en polietilenglicol 4000 y citrato de sodio para reducir el contenido de azúcares. Los extractos se utilizaron para pigmentar leche y evaluar la estabilidad del color en almacenamiento a 4 °C. Se obtuvieron cuatro fracciones E_{amarillo} , E_{naranja} , E_{rosa} y E_{rojo} con concentraciones de betacianinas de 9.23 ± 0.8 , 22.37 ± 0.21 , 76.54 ± 1.19 y 61.0 ± 1.79 mg L⁻¹ y betaxantinas de 49.3 ± 1.1 , 77.5 ± 0.2 , 35.2 ± 1.1 y 53.32 ± 1.2 respectivamente. El ángulo de tono de la leche pigmentada con los extractos E_{amarillo} , E_{naranja} , E_{rosa} y E_{rojo} al inicio del almacenamiento fue de 81.9 ± 0.4 , 60.6 ± 1.5 , 9.6 ± 1.3 y 13.0 ± 1.8 ° respectivamente. El color se mantuvo sin cambio aparente durante 24 d de almacenamiento, por lo que los extractos de betacianinas y betaxantinas se calificaron como adecuados para proveer coloración rojiza y amarilla en bebidas lácteas.

Palabras clave: *Stenocereus* spp., ATPE, partición de betalaínas, pigmentación.

Tesis de Doctorado en Ciencias Agroalimentarias, Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo.

Autor: M. C. Leticia García Cruz

Director de tesis: Dr. Salvador Valle Guadarrama

PIGMENTING POTENTIAL OF BETACYANINS AND BETAXANTHINS SEPARATED FROM PITAYA (*Stenocereus pruinosis*) WITH AQUEOUS BIPHASIC SYSTEM

5.2 Abstract

The pitaya (*Stenocereus* spp.) fruit is a source of betalains that can be used to provide tonalities ranging from red-violet to yellow, but the partitioning into betacyanins and betaxanthins must be addressed, in addition to the reduction of the sugar content. The work aimed evaluating the use of extracts of betalains from pitaya fruits with different tones and low sugar content in the pigmentation of food matrices. The aqueous two-phase extraction (ATPE) technique based on 1-propanol and sodium citrate was applied in multiple stages to obtain fractions rich in betaxanthins and betacyanins. Subsequently, an ATPE system based on polyethylene glycol 4000 and sodium citrate was used to reduce the sugar content. The extracts were used to pigment milk and evaluate the color stability during a storage at 4 °C. Four fractions, Eamarillo, Enaranja, Erosa and Erojo, were obtained with betacyanin concentrations of 9.23 ± 0.8 , 22.37 ± 0.21 , 76.54 ± 1.19 , and 61.0 ± 1.79 mg L⁻¹ and betaxanthins concentration of 49.3 ± 1.1 , 77.5 ± 0.2 , 35.2 ± 1.1 , and 53.32 ± 1.2 mg L⁻¹, respectively. The hue angle of the pigmented milk with the Eamarillo, Enaranja, Erosa, and Erojo extracts at the beginning of storage was 81.9 ± 0.4 , 60.6 ± 1.5 , 9.6 ± 1.3 and 13.0 ± 1.8 degrees, respectively. The color remained without apparent change during 24 d of storage, which allowed extracts of betacyanins and betaxanthins to be qualified as adequate to provide reddish and yellow hue in milk beverages.

Key words: *Stenocereus* spp., ATPE, betalain partitioning, pigmentation.

5.3 Introducción

El color es una de las características más importantes de los alimentos debido a que es la primera impresión que tiene el consumidor y de acuerdo a esto es la decisión de compra ya que se ha visto que la percepción del sabor de los alimentos está directamente relacionado con el color del mismo (Aberoumand, 2011). Por muchos años se han empleado colorantes sintéticos en los alimentos debido a que sus costos de producción son bajos, son estables, tienen alto poder colorante, no imparten sabores no deseados y abarcan una amplia gama de colores respecto a los colorantes naturales (Maronpot et al., 2020). Sin embargo, diversas investigaciones han comprobado que los colorantes sintéticos provocan efectos dañinos a la salud, pues pueden ser carcinogénicos, provocar reacciones de hipersensibilidad, trastornos neuroconductuales, agresividad, déficit de atención, asma, migraña, vómito, erupciones cutáneas, entre otras (Okafor et al., 2016; Uchegbu et al., 2020). Por esta razón se ha dado el creciente interés de sustituir colorantes sintéticos por colorantes naturales, dentro de los cuales las betalaínas son una opción.

Las betalaínas son compuestos nitrogenados, su unidad estructural básica es el ácido betalámico. Se dividen en dos grupos, las betacianinas que otorgan coloraciones rojo-violeta y son formadas por la unión del ácido betalámico con la ciclo-3,4-dihidroxifenilalanina (cyclo-Dopa) con su máxima absorción a 540 nm, y las betaxantinas, que dan color amarillo-naranja, tienen su máxima absorción a 480 nm, y se forman por la condensación del ácido betalámico con un amioácido o amina (Azeredo, 2009). Las betalaínas tienen un uso prometedor como colorantes naturales (Vargas-Campos et al., 2018) en la industria alimentaria, pues son estables en un intervalo de pH de 3-7 por lo que se pueden emplear en alimentos ácidos como neutros, su poder tintóreo es hasta tres veces más que las antocianinas (Stintzing & Carle, 2007), además de que pueden abarcar una amplia paleta de colores al variar la proporción de betacianinas y betaxantinas (Gandía-Herrero et al., 2013). El betabel es la principal fuente de betalaínas y es el único aprobado para su uso como colorante en alimentos, en la Unión Europea

es clasificado por el Codex Alimentarius como E-162; sin embargo, el típico sabor a tierra causado por la presencia de geosmina, las altas concentraciones de nitratos asociados con la formación de nitrosaminas carcinogénicas, además del riesgo de acarrear microorganismos debido al contacto directo con la tierra pueden reducir su uso (Moreno et al., 2008). De ahí la importancia de tener fuentes alternas de betalaínas, en donde los frutos de pitaya (*Stenoereus pruinusus*) pueden ser la alternativa, pues diversos estudios han documentado altas concentraciones de betacianinas y betaxantinas presentes en la pulpa (García-Cruz et al., 2017; Rodríguez-Sánchez et al., 2017; Vargas-Campos et al., 2018). Se ha encontrado que ambos tipos de betalaínas, betacianinas y betaxantinas, coexisten en altas concentraciones en un mismo extracto obtenido de frutos de pitaya, en particular en la variante de pulpa roja. Para separar betacianinas de betaxantinas puede hacerse uso de diversas técnicas cromatográficas (Pires-Gonçalves et al., 2012); no obstante, son técnicas caras debido al uso de reactivos y equipos altamente especializados. Se ha reportado que el uso de la extracción acuosa en dos fases (ATPE) permite separar betacianinas de betaxantinas (Chandrasekhar et al., 2015), en este sentido García-Cruz et al. (2021) lograron obtener cuatro fracciones de distintas coloraciones al utilizar una extracción en multietapa utilizando sistemas ATPE.

Dos de los colorantes ampliamente utilizados en la industria alimenticia son el rojo 40 y el amarillo 5, los cuales se ha visto que pueden acelerar la aparición de tumores del sistema inmunitario en ratones, están ampliamente relacionados con la hipersensibilidad e hiperactividad en niños, además de que pueden estar contaminados con químicos cancerígenos (Okafor et al., 2016). Los colorantes antes mencionados pueden ser sustituidos por betacianinas y betaxantinas. Extractos de betalaínas se han utilizado para colorear alimentos de origen lácteo como leche (Gengatharan et al., 2016; Güneşer, 2016) , yogur (Dias et al., 2020; Guneser, 2021) y helado (Gengatharan et al., 2016), no obstante se han empleado únicamente extractos ricos en betacianinas y el uso de extractos con betaxantinas como componente principal ha sido poco estudiado. Por otro lado,

los extractos de pitaya se caracterizan por ostentar un alto contenido de azúcares, lo cual puede limitar un uso en matrices alimenticias, por la eventual alteración sensorial en el material destino y porque sería rechazado por personas con diabetes. En tal sentido, se ha demostrado que, en función del sistema empleado, la técnica de ATPE tiene potencial para reducir de manera significativa el contenido de azúcares en los extractos pigmentantes (Vargas-Campos et al., 2018). En este sentido, el objetivo del trabajo fue evaluar el uso de extractos de betalaínas de frutos de pitaya con distinta tonalidad y bajo contenido de azúcares en la pigmentación de matrices alimenticias

5.4 Materiales y métodos

5.4.1 Material vegetal

Se utilizaron frutos de pitaya (*Stenocereus pruinosus*), los cuales fueron colectados en estado de madurez en huertos comerciales de Santa Clara Huitziltepec, Puebla, México (18° 35' 46" N y 97° 55' 48" W; 1940 msnm).

5.4.2 Obtención del extracto

Se utilizó el procedimiento descrito por García-Cruz et al. (2021) para conducir la partición de betalaínas en betacianinas y betaxantinas a través de una operación multietapa de una extracción acuosa en dos fases basada en 1-propanol y citrato de sodio en concentraciones de 60.54 y 6.57 %, respectivamente. Brevemente, se usó una muestra de 51 g de pulpa de frutos de pitaya y se incorporó a una mezcla de 320 g de 1-propanol-citrato de sodio. La mezcla se agitó con un elemento magnético durante 5 min, se dejó reposar durante 1 h en oscuridad y se centrifugó a 11,000×g durante 5 min. Se formaron dos fases líquidas, una superior, con composición mayoritaria de propanol y otra inferior, con composición mayoritaria de citrato de sodio. Se separó la fase inferior y se le adicionó la fase superior de un sistema preparado *de novo* con agua como disolvente y sin material vegetal y se repitió el procedimiento. Posteriormente se recuperó una vez más la fase inferior y se hizo el procedimiento antes

mencionado dos veces más, con lo cual se tuvo un extracto rico en betacianinas (E_{Rosa}). Por otro lado, las fases superiores de la primera y segunda separaciones se les agregó la fase inferior de un sistema preparado *de novo* sólo con agua y sin material vegetal para obtener un extracto de betaxantinas (E_{Amarillo}). Las fases superiores de estos sistemas se manejaron como una misma fracción ya que su composición respecto al contenido de betaxantinas fue similar. Se preparó otro extracto, también con 51 g de muestra, y se sometió a una sola separación, de donde se separó la fase inferior, la cual tenía una mezcla de betacianinas y betaxantinas (E_{Rojo}) y, asimismo, la fase superior, que en su mayoría fueron betaxantinas (E_{Naranja}). Las fases E_{Amarillo} y E_{Naranja} se llevaron a sequedad en un evaporador rotatorio y el residuo se recuperó en 50 mL de agua destilada. Las fracciones E_{Rosa} y E_{Rojo} fueron sometidas, por separado, a otro sistema de extracción acuosa en dos fases basado en polientilenglicol 4000 (PEG4000) y citrato de sodio en concentraciones de 21.78 y 17.63 %, respectivamente, con el fin de remover la sal y los azúcares de la fase de trabajo, de acuerdo con lo señalado por Jiménez-Velázquez et al. (2020). En este sistema de extracción, los compuestos de interés (betalaínas) se localizaron en la fase superior, en tanto que los azúcares permanecieron en la fase inferior. En tal sentido, se recuperaron las fases superiores y con éstas se realizaron ensayos de pigmentación (Figura 11).

5.4.3 Caracterización del extracto

Los extractos se sometieron a evaluación de contenido de betalaínas y azúcares. En adición, para cada fracción se obtuvo un espectro de absorción en equipo de espectrofotometría UV-vis (DR 500 UV-vis HACH, USA), con resolución de absorbancia de 0.001. En el caso de betalaínas se utilizó un método espectrofotométrico, de acuerdo a lo descrito por Stintzing et al. (2005), con base en el cálculo $[Bc \text{ o } Bx = (A * FD * PM * 1000) / (\epsilon * L)]$, donde Bc es la concentración de betacianinas y Bx es la concentración de betaxantinas, A es absorbancia a 538 nm para el caso de betacianinas y 488 nm para betaxantinas, FD es factor de dilución al momento de leer en el espectrofotómetro, PM es peso molecular

(550 g mol⁻¹ para betanina y 308 g mol⁻¹ para indicaxantina), ϵ es coeficiente de extinción molar (betanina: 60 000 L mol⁻¹ cm⁻¹ e indicaxantina: 48 000 L mol⁻¹ cm⁻¹) y L es longitud de la celda (1 cm). Los resultados se expresaron como mg L⁻¹. En el caso de azúcares, se empleó el método fenol-ácido sulfúrico de acuerdo a lo descrito por Nowotny (1979) con algunas modificaciones. Se tomaron 100 µL de muestra y se colocaron en tubos de ensayo. Posteriormente se adicionaron 500 µL de fenol al 5 % (p/v) y 2500 µL de ácido sulfúrico concentrado. La mezcla se dejó reaccionar por 15 min y se leyó absorbancia a una longitud de onda 490 nm en un espectrofotómetro (DR 500 UV-vis HACH, USA). Se elaboró una curva patrón utilizando glucosa ($y = 0.0022x + 0.0026$; $R^2 = 0.995$). Los resultados fueron expresados como miligramos de glucosa por mililitro de extracto (mg mL⁻¹).

5.4.4 Ensayos de pigmentación

5.4.4.1 Pigmentación de leche de vaca

Se usaron 10 lotes de leche de vaca con volumen de 20 mL. En cada uno se agregó una cantidad conocida de los extractos. Se aplicó agitación para homogeneizar y se registraron los atributos de color en términos de luminosidad (L) y ángulo de tono o hue. Los datos de ángulo de tono se ajustaron a modelos de regresión y se determinó la cantidad de extracto óptima para alcanzar tonalidad constante.

Se prepararon nuevos lotes de 20 mL de leche entera de vaca de la marca comercial Lala®. En cada unidad se agregó extracto en cantidad definida con apoyo de las curvas de pigmentación. Las unidades se almacenaron a viales a 4.0 (±1.0) °C durante 39 d. En distintos tiempos se realizó evaluación de atributos de color en términos de luminosidad (L*), ángulo de tono (H*) y cromaticidad (C*) (Sant'Anna et al., 2013), así como pH y acidez titulable.

5.4.5 Análisis de datos

Los datos fueron analizados considerando uno o dos factores de variación. Se llevó a cabo un análisis de varianza, seguido de comparación de medias utilizando el estadístico de Tukey ($p \leq 0.05$). El muestreo se llevó a cabo cada 3 d y se tuvieron tres repeticiones.

5.5 Resultados y discusión

5.5.1 Partición de betalaínas

La extracción de betalaínas de pitaya por el método de ATPE en multietapa utilizando 1-propanol y citrato de sodio como formadores de fase permitió obtener cuatro fracciones con distintas tonalidades: rojo, rosa, naranja y amarillo. El origen de dichos colores se debió a la presencia de betacianinas, betaxantinas o la mezcla de ambas, lo cual se corroboró mediante espectros de absorción, donde se observaron uno o dos picos juntos (Figura 12). Del sistema propanol-citrato la fracción E_{Rosa} tuvo una composición de $67.79 (\pm 2.11)$ y $32.59 (\pm 1.62)$ mg L^{-1} de betacianinas y betaxantinas respectivamente, en tanto que en la fracción E_{Rojo} se tuvieron concentraciones de $101.38 (\pm 2.85)$ y $123.14 (\pm 1.85)$ mg L^{-1} . En el caso de la fracción E_{Rosa} aunque su espectro de absorción mostró solo un pico con el máximo de absorción a 540 nm (Figura 12 A), la apariencia del mismo fue de gran anchura, debido a lo cual también dio lectura a 488 nm. Al someter las fracciones E_{Rosa} y E_{Rojo} a una segunda extracción utilizando el sistema de PEG-citrato, se encontró que en ambas se favoreció el incremento de betacianinas respecto al de betaxantinas (Cuadro 12). Sin embargo, dado a que en la fracción E_{Rosa} hubo una proporción 2.2:1.0 de betacianinas respecto a betaxantinas, el color del extracto fue rosa-violeta, en tanto que en la fracción E_{Rojo} la proporción fue prácticamente de 1:1, por lo que la coloración del extracto fue roja.

Las fracciones E_{Amarillo} y E_{Naranja} presentaron las concentraciones que se observan en el Cuadro 12 después de evaporar el propanol y recuperar en agua destilada.

En la fracción E_{Amarillo} sólo se observó un pico en el espectro de absorción (Figura 12 C) y el color del extracto fue amarillo, correspondiendo a la presencia de betaxantinas. En tanto, en la fracción E_{Naranja} se encontraron dos picos (Figura 12 D) y, a diferencia de la fracción E_{Rojo}, donde también se encontró una mezcla de betacianinas y betaxantinas, la proporción de Bc/Bx fue 1.0:3.5, lo que originó que tonalidad naranja. Gandía-Herrero et al. (2013) observaron un comportamiento similar, al mezclar un extracto de flores de *Lampranthus* (color rosa) con un extracto de betaxantinas (color amarillo) sintetizadas en el laboratorio a partir de betabel, en el cual, dependiendo de la proporción de betacianinas y betaxantinas se obtiene una coloración distinta que puede ir de amarillo (betaxantinas puras), pasando por distintas tonalidades de naranja y rojo hasta el rosa-morado (betacianinas puras).

En el presente trabajo, al tener una importante concentración de betacianinas y betaxantinas en la pulpa de pitaya se consiguió obtener cuatro tonalidades al utilizar el método de ATPE en multietapa, lo que contrastó con los resultados de Gandía-Herrero et al. (2013), donde para obtener una amplia paleta de colores se tuvo que hacer la combinación de extractos provenientes de diversas fuentes vegetales.

Cuadro 12. Concentración de betalaínas de los extractos utilizados para la coloración de leche entera. Medias con la misma letra indican no diferencia estadística significativa.

Fracción	Bc (mg L ⁻¹)	Bx (mg L ⁻¹)	Proporción Bc / Bx
E _{Amarillo}	9.23 ± 0.83 d	49.34 ± 1.11 c	1.00 / 5.35
E _{Naranja}	22.37 ± 0.21 c	77.51 ± 0.21 a	1.00 / 3.46
E _{Rosa}	76.54 ± 1.19 a	35.29 ± 1.12 d	2.17 / 1.00
E _{Rojo}	61.00 ± 1.79 b	53.32 ± 1.25 b	1.14 / 1.00

5.5.2 Concentración de azúcares totales en los extracto de trabajo

Los extractos E_{Amarillo} y E_{Naranja} tuvieron concentraciones de azúcares totales de 6.45 (± 0.25) y 25.45 (± 1.57) mg L⁻¹ respectivamente, y la diferencia se debió a

que el E_{Amarillo} provino de una extracción en multietapa. Al respecto, se ha reportado que la extracción en por ATPE en multietapa reduce el contenido de azúcares al llevar a cabo una partición selectiva de las moléculas de interés (Chandrasekhar et al., 2015; García-Cruz et al., 2021). De igual manera ocurrió con las fracciones E_{Rosa} y E_{Rojo}, pues la primera, al provenir de una extracción en multietapa tuvo menor concentración de azúcares totales respecto a la segunda (Cuadro 13).

El sistema de extracción basado en polietilenglicol 4000 y citrato de sodio se empleó para remover los azúcares de la fracción de trabajo (fase inferior), así como la remoción del citrato de sodio, ya que como se ha reportado previamente, los azúcares tienden a permanecer en la fase salina (Jiménez-Velázquez et al., 2020).

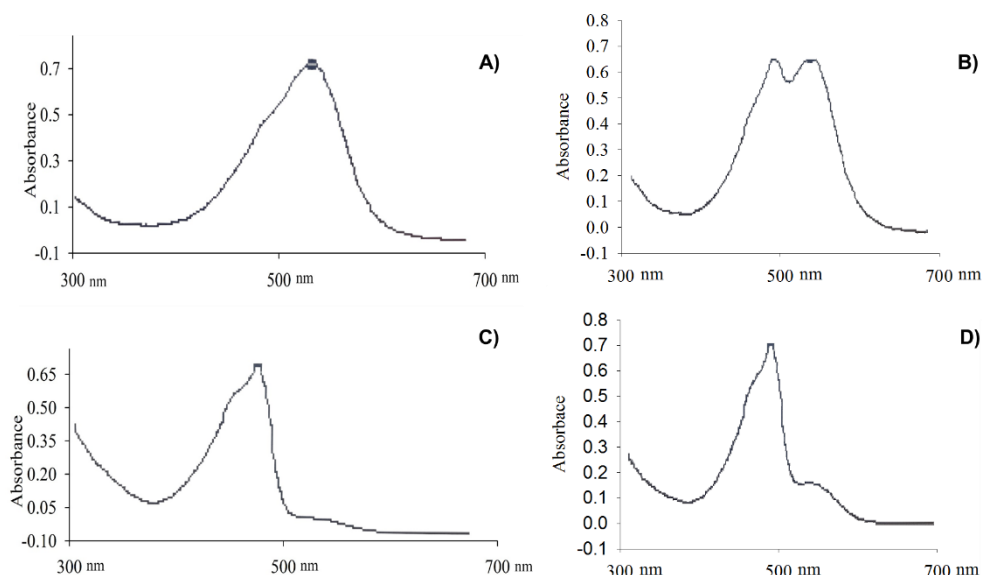


Figura 12. Espectros de absorción de las fracciones utilizadas para colorear leche. Extracto rico en betacianinas (E_{Rosa}) A), extracto con mezcla de betacianinas y betaxantinas (E_{Rojo}) B), extracto de betaxantinas (E_{Amarillo}) C) y extracto con mezcla de betacianinas y betaxantinas (E_{naranja}) D).

Se ha observado que cuando se usa la extracción por ATPE para remover azúcares de compuestos de interés, si el sistema lo forma un polímero y una sal,

las biomoléculas de interés migran hacia la fase polimérica, en tanto que los azúcares se van hacia la fase inferior (Jampani & Raghavarao, 2015; Sandate-Flores et al., 2020; Vargas-Campos et al., 2018). En el presente trabajo se obtuvo algo similar, la fase salina presentó la mayor concentración de azúcares, mientras que la fase superior, la cual fue la fase de interés, tuvo una reducción del 70 % de azúcares respecto al extracto de origen.

Cuadro 13. Concentración de azúcares en los extractos utilizados para pigmentar leche entera. FI, fase inferior y FS fase superior.

	Sistema Propanol-Citrato		Sistema PEG-Citrato	
	Azúcares totales (mg mL ⁻¹)			
	FI	FS	FI	FS
E _{Rosa}	30.99 ± 0.42	0.78 ± 0.11	23.05 ± 1.58	8.52 ± 0.66
E _{Rojo}	69.31 ± 0.77	1.59 ± 0.22	41.16 ± 1.8	20.91 ± 0.66

5.5.3 Curvas de pigmentación

Con ayuda de las curvas de coloración (Figura 13) se definieron las cantidades de extracto necesarias para colorear leche de vaca hasta alcanzar un ángulo de tono (H*) constante. Se utilizaron, en los lotes de 20 mL, 2.0 (±0.001) g de las fracciones E_{Amarillo} y E_{Rojo}, 1.05 (±0.001) de la fracción E_{Naranja} y 0.8 g de la fracción E_{Rosa} (Figura 13), por lo que las muestras de leche alcanzaron concentraciones de 5.32, 4.77, 4.07 y 10.39 mg L⁻¹ de betalaínas totales al ser pigmentadas con los extractos E_{Amarillo}, E_{Naranja}, E_{Rosa} y E_{Rojo}, respectivamente. Las concentraciones de los extractos que se utilizaron en el presente estudio fueron bajas en comparación con lo que se ha hecho en otros trabajos, Gengatharan et al. (2016) utilizaron 1 % de un extracto de betacianinas de pitahaya (*Hylocereus polyrhizus*) con concentración de 50 mg mL⁻¹ para colorear leche, en tanto que Güneşer (2016) utilizó 0.3 % p/v de un extracto comercial de betabel; sin embargo, el límite permitido para emplear el colorante E-162 se restringe al uso de buenas prácticas de fabricación (NOM-155-SCFI-2012).

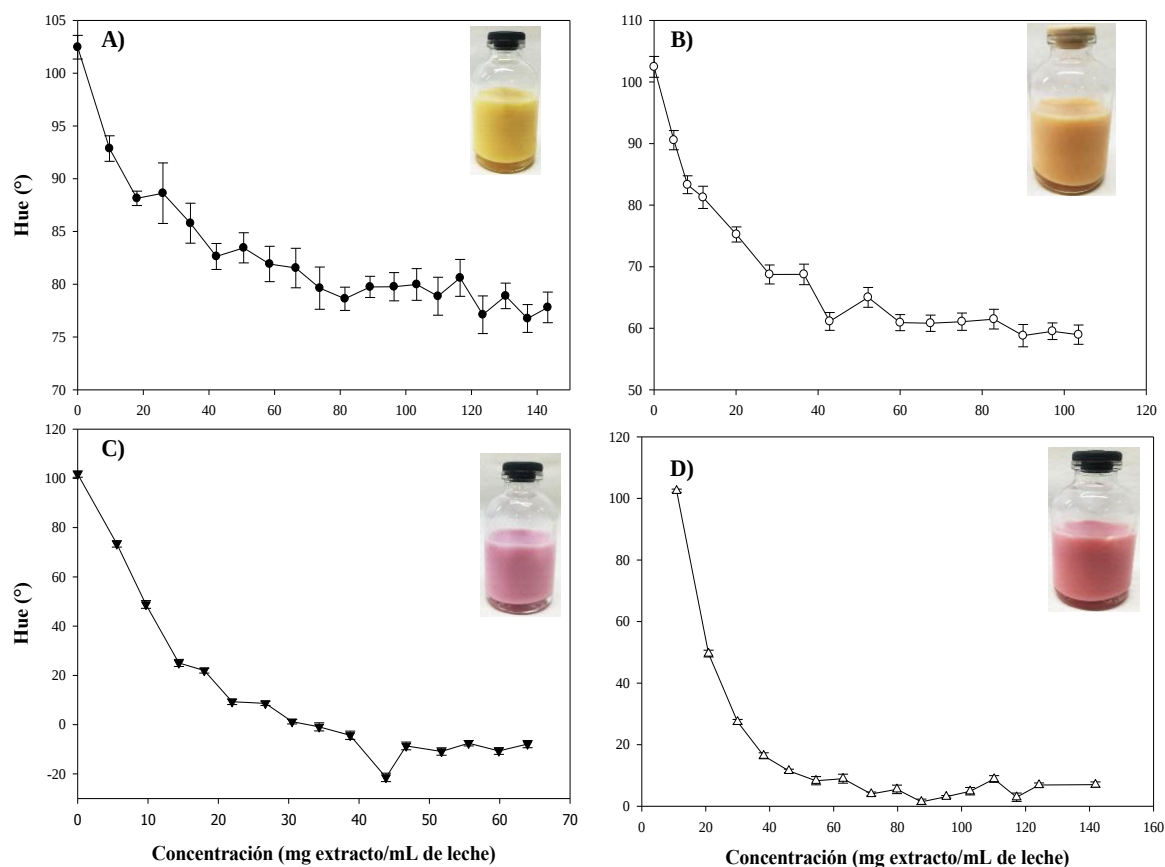


Figura 13. Curvas de pigmentación de leche con las fracciones obtenidas por ATPE. A) Extracto de betaxantinas (E_{Amarillo}), B) extracto con mezcla de betacianinas y betaxantinas (E_{naranja}), C) extracto rico en betacianinas (E_{Rosa}) y D) extracto con mezcla de betacianinas y betaxantinas (E_{Rojo}).

5.5.4 Estabilidad de la pigmentación

El color que brindaron a la leche los extractos E_{Amarillo} , E_{Naranja} , E_{Rosa} y E_{Rojo} fue estadísticamente diferente. De acuerdo con la esfera de color CIELab, un ángulo de tono (H^*) igual a 0° es indicativo del color rojo, en tanto que 90° indica un color amarillo (Sant'Anna et al., 2013). El ángulo de tono de la leche pigmentada con el extracto E_{Amarillo} estuvo entre 78.7 y 86.3° , por lo que su color fue cercano al tono amarillo. La leche coloreada con el extracto E_{naranja} presentó valor de ángulos entre 59.6 y 75.2° , y ello explicó la apariencia de color naranja. Las leches coloreadas con los extractos E_{Rosa} y E_{Rojo} presentaron ángulos de tono de

9.5-42.1° y 12.4-47.6° respectivamente, los cuales corresponden a tonalidades rojas (Figura 14). En la Figura 14 se puede notar que el ángulo de tono de las leches pigmentadas con los extractos E_{Amarillo} y E_{Naranja} se mantuvieron prácticamente constantes durante el tiempo de almacenamiento. Por otro lado, el ángulo de tono de las leches coloreadas con los extractos E_{Rosa} y E_{Rojo} mostró una tendencia ascendente a partir del día 27 de almacenamiento, pasando de tonalidades rojas a tonalidades naranja, lo cual pudo obedecer a la degradación de las betacianinas, ya que se ha reportado que la pérdida del grupo carboxilo en la posición C17 provoca un cambio de coloración y pasa de rojo a rojo-naranja, además de la deshidrogenación, que origina una coloración amarilla (Herbach et al., 2004).

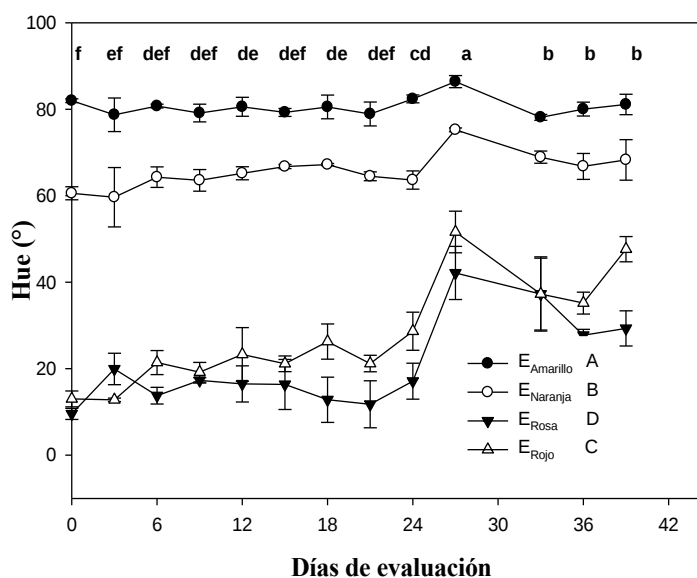


Figura 14. Evaluación del ángulo de todo de leche pigmentada con extractos de betalaínas almacenada a 4 °C. Letras mayúsculas indican diferencia significativa entre tratamientos, letras minúsculas indican diferencia significativa entre días de evaluación (Tukey, $p \leq 0.05$). Barras de error indican desviación estándar.

El ángulo de tono de las leches pigmentadas con los extractos de betalaínas se mantuvo sin cambios considerables hasta el día 24 (Figura 14). En promedio, hasta ese día se tuvieron ángulos de tono de 79.9° (± 1.3), 63.9° (± 2.5), 14.7° (± 3.2) y 19.8° (± 5.3) para E_{Amarillo} , E_{Naranja} , E_{Rosa} y E_{Rojo} , respectivamente, y estos

valores fueron estadísticamente similares a los del inicio del almacenamiento. De los extractos de betacianinas, el E_{Rosa} brindó un ángulo de tono similar al de una leche comercial sabor fresa. Asimismo, respecto a los extractos de betaxantinas, el E_{Amarillo} causó ángulo de tono similar al de una leche comercial sabor vainilla (Cuadro 14). El color difirió ligeramente en su apariencia visual respecto de estos materiales de referencia (Figura 15), lo cual se debió a la pureza del color (cromaticidad), ya que la leche pigmentada con el E_{Rosa} tuvo cromaticidad de 6.01 (± 1.4), mientras que en la leche pigmentada con E_{Amarillo} el valor fue de 10.4 (± 0.7). En los casos restantes, las leches pigmentadas con E_{Rojo} y E_{Naranja} tuvieron valores de cromaticidad de 8.3 (± 1.6) y 9.7 ± 0.8 , respectivamente. Por otro lado, la luminosidad (L^*) se mantuvo constante durante el tiempo de almacenamiento, con valores promedio de 25.5 (± 1.8), 24.9 (± 1.6), 22.9 (± 1.8) y 24.02 (± 2.4) para las leches pigmentadas con E_{Amarillo} , E_{Naranja} , E_{Rosa} y E_{Rojo} , respectivamente. La luminosidad fue similar a la que se obtiene al usar colorantes artificiales para dar tonalidades de fresa y vainilla en leches comerciales (Cuadro 14).

El tiempo de estabilidad de color en leches pigmentadas con extractos de betalaínas del presente trabajo fue similar al tiempo de estabilidad encontrado en muestras de yogur que se pigmentó con extracto de betalaínas provenientes de betabel y que se almacenó por 21 d a 4 °C (Dias et al., 2020). Otros autores han encontrado mayor estabilidad en yogur, pero pudo deberse a la concentración utilizada (Guneser, 2021). En helado también se han utilizado betacianinas para dar color rosa-rojo y se ha probado que los cambios de color son mínimos durante 21 d almacenado a -18 °C. Además, en el mismo trabajo se ha observó un incremento en la concentración de betacianinas, lo cual pudo deberse a que la congelación podría regenerar a los pigmentos (Gengatharan et al., 2021).



Figura 15. Color de leche pigmentada con extractos de betalainas de pitaya en comparación con leches comerciales. a) E_{Rosa}, b) E_{Rojo}, c) leche sabor fresa, d) E_{Amarillo}, e) E_{Naranja} y f) leche sabor vainilla.

Cuadro 14. Características de acidez, pH y color de leche natural y leches saborizadas comerciales.

	Acidez (g L ⁻¹)	pH	L*	Ángulo de tono (H*)	Cromaticidad
Leche natural	1.31 ± 0.034	6.79 ± 0.006	30.56 ± 1.26	97.77 ± 3.02	4.89 ± 0.07
Fresa	1.69 ± 0.16	6.67 ± 0.012	24.34 ± 2.65	14.59 ± 2.72	8.40 ± 0.47
Vainilla	1.57 ± 0.022	6.67 ± 0.006	26.11 ± 0.61	84.16 ± 0.77	13.54 ± 0.34

5.5.5 pH y acidez titulable de leche durante el almacenamiento

El pH de la leche fue de 6.8 antes de ser pigmentada con los extractos de betalainas. El valor no sufrió variación importante con la adición de los agentes pigmentantes y osciló entre 6.5 y 7.1. En particular, el extracto con el que se registraron valores de pH mayores fue el E_{Rojo} (Figura 16), lo cual pudo deberse a la mayor cantidad empleada para la coloración de la leche, así como la presencia de polietilenglicol 4000. El pH se mantuvo sin cambios considerables hasta el día 27 de almacenamiento (Figura 16), con valores promedio de 6.8 (±0.02), 6.7 (±0.1), 6.8 (±0.05) y 7.03 (±0.8) en sistemas con E_{Amarillo}, E_{Naranja}, E_{Rosa} y E_{Rojo}, respectivamente, los cuales coincidieron con lo reportado para leche entera (CANILEC, 2011).

Está bien documentado que las betalaínas son estables en un intervalo de pH de 3-7 (Stintzing et al., 2003), por lo que pueden utilizarse para dar color a alimentos ligeramente ácidos así como neutros. Se ha visto que las betaxantinas son más estables a pH 6 (Stintzing & Carle, 2007), en tanto que las betacianinas lo son a pH 4 (Herbach et al., 2006), lo cual pudo haber sido la causa por la que el ángulo de tono las leches coloreadas con los extractos E_{Amarillo} y E_{Naranja} se mantuvieron sin muchos cambios durante los 39 d de almacenamiento en comparación con las leches coloreadas con E_{Rosa} y E_{Rojo}, donde a partir del día 27 experimentaron más cambios (Figura 14), ya que los extractos E_{Amarillo} y E_{Naranja} tuvieron en su mayoría principalmente betaxantinas (Cuadro 12).

En lo referente a la acidez titulable, de acuerdo con la NOM-155-SCFI-2012 la leche entera debe presentar valores de 1.3 a 1.7 g L⁻¹. Al respecto, la leche antes de ser pigmentada presentó valores coherentes con esta norma (Cuadro 14); sin embargo, una vez que se adicionaron los extractos pigmentantes se tuvo una ligera disminución de la acidez titulable (Figura 16), lo cual pudo deberse a un efecto de dilución. Al igual que el pH, la acidez se mantuvo constante hasta el día 27, pero a partir del día 33 se observaron incrementos en las leches coloreadas con los extractos E_{Naranja} y E_{Rosa}, lo cual pudo deberse a la posible acción microbiana que degradó la lactosa a ácido láctico.

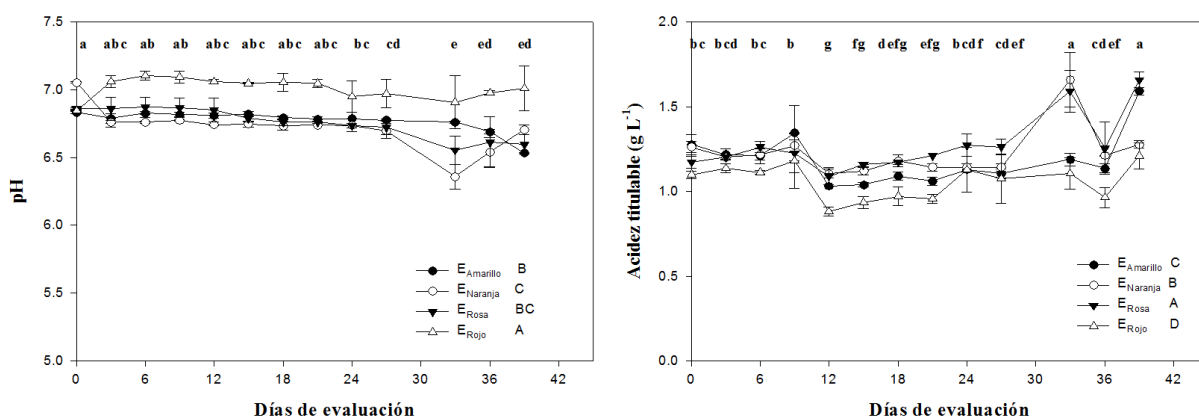


Figura 16. Evaluación de acidez titulable y pH en leche pigmentada con extractos de betalaínas durante el almacenamiento a 4 °C. Letras mayúsculas indican diferencia significativa entre tratamientos, letras minúsculas indican diferencia

significativa entre días de evaluación (Tukey, $p \leq 0.05$). Barras de error indican desviación estándar.

5.6 Conclusiones

La técnica de extracción en dos fases basada en un sistema con citrato de sodio y 1-propanol permitió obtener fracciones de tonalidad que varió entre rojo y amarillo a partir de pulpa de frutos de pitaya de mayo. Los extractos ricos en betacianinas (E_{Rosa} y E_{Rojo}) brindaron coloración que se asemeja al de una leche comercial sabor fresa, en tanto que con el extracto de betaxantinas E_{Amarillo} la coloración de la leche se asemejó al de una leche comercial sabor vainilla. La estabilidad del ángulo de tono se mantuvo por 24 d de almacenamiento a 4 °C, por lo que los extractos representan una opción viable para dar color y sustituir a colorantes sintéticos.

5.7 Literatura citada

- Aberoumand, A. (2011). A review article on edible pigments properties and sources as natural biocolorants in foodstuff and food industry. *World Journal of Dairy & Food Sciences*, 6(1), 71–78.
- Azeredo, H. M. C. (2009). Betalains: Properties, sources, applications, and stability - A review. *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 2365–2376. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2007.01668.x>
- CANILEC. (2011). *El libro blanco de la leche y los productos lácteos* (Primera ed). Cámara Nacional de Industriales de la Leche.
- Chandrasekhar, J., Sonika, G., Madhusudhan, M. C., & Raghavarao, K. S. M. S. (2015). Differential partitioning of betacyanins and betaxanthins employing aqueous two phase extraction. *Journal of Food Engineering*, 144, 156–163. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.07.018>
- Dias, S., Castanheira, E. M. S., Fortes, A. G., Pereira, D. M., & Gonçalves, M. S. T. (2020). Coloring soy-based yogurt alternative. *Foods*, 9(771), 1–13.
- Gandía-Herrero, F., Cabanes, J., Escribano, J., García-Carmona, F., & Jiménez-Atiénzar, M. (2013). Encapsulation of the most potent antioxidant betalains

- in edible matrixes as powders of different colors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 4294–4302. <https://doi.org/dx.doi.org/10.1021/jf400337g>
- García-Cruz, L., Dueñas, M., Santos-Buelgas, C., Valle-Guadarrama, S., & Salinas-Moreno, Y. (2017). Betalains and phenolic compounds profiling and antioxidant capacity of pitaya (*Stenocereus* spp.) fruit from two species (*S. pruinosus* and *S. stellatus*). *Food Chemistry*, 234, 111–118. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2017.04.174>
- García-Cruz, L., Valle-Guadarrama, S., Soto-Hernández, R. M., Guerra-Ramírez, D., Zuleta-Prada, H., Martínez-Damián, M. T., & Ramírez-Valencia, Y. D. (2021). Separation of pitaya (*Stenocereus pruinosus*) betaxanthins, betacyanins, and soluble phenols through multistage aqueous two-phase systems. *Food and Bioprocess Technology*. <https://doi.org/10.1007/s11947-021-02676-1>
- Gengatharan, A., Dykes, G. A., & Choo, W. S. (2016). Stability of betacyanin from red pitahaya (*Hylocereus polyrhizus*) and its potential application as a natural colourant in milk. *International Journal of Food Science and Technology*, 51(2), 427–434. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12999>
- Gengatharan, A., Dykes, G., & Choo, W. S. (2021). Betacyanins from *Hylocereus polyrhizus*: pectinase-assisted extraction and application as a natural food colourant in ice cream. *Journal of Food Science and Technology*, 58(4), 1401–1410. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04651-8>
- Guneser, O. (2021). Kinetic modelling of Betalain stability and color changes in yogurt during storage. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 71(2), 135–145. <https://doi.org/10.31883/pjfn/134393>
- Güneşer, O. (2016). Pigment and color stability of beetroot betalains in cow milk during thermal treatment. *Food Chemistry*, 196, 220–227. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.033>
- Herbach, K. M., Rohe, M., Stintzing, F. C., & Carle, R. (2006). Structural and chromatic stability of purple pitaya (*Hylocereus polyrhizus* [Weber] Britton & Rose) betacyanins as affected by the juice matrix and selected additives.

Food Research International, 39, 667–677.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.01.004>

- Herbach, K. M., Stintzing, F. C., & Carle, R. (2004). Impact of thermal treatment on color and pigment pattern of red beet (*Beta vulgaris* L.) preparations. *Journal of Food Science*, 69(6), 491–499. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb10994.x>
- Jampani, C., & Raghavarao, K. S. M. S. (2015). Process integration for purification and concentration of red cabbage (*Brassica oleracea* L.) anthocyanins. *Separation and Purification Technology*, 141, 10–16. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2014.11.024>
- Jiménez-Velázquez, P., Valle-Guadarrama, S., Alia-Tejacal, I., Salinas-Moreno, Y., García-Cruz, L., Pérez-López, A., & Guerra-Ramírez, D. (2020). Separation of bioactive compounds from epicarp of ‘Hass’ avocado fruit through aqueous two-phase systems. *Food and Bioprocess Processing*, 123, 238–250. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.07.004>
- Maronpot, R. R., Hayashi, S., & Bastaki, M. (2020). Synthetic and Natural Food Colorants. *Foods & Foods Ingredients Journal*, 225(2), 100–110.
- Moreno, D. A., García-Viguera, C., Gil, J. I., & Gil-Izquierdo, A. (2008). Betalains in the era of global agri-food science, technology and nutritional health. *Phytochemistry Reviews*, 7, 261–280. <https://doi.org/10.1007/s11101-007-9084-y>
- Nowotny, A. (1979). Carbohydrate determination by phenol-sulfuric acid. In *Basic Exercises in Immunochemistry* (pp. 171–173). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-67356-6_52
- Okafor, S. N., Obonga, W., Ezeokonkwo, M. A., Nurudeen, J., Orowigho, U., & Ahiabuike, A. (2016). Assessment of the health implications of synthetic and natural food colourants – A critical review. *Pharmaceutical and Biosciences Journal*, 4(4), 1–11. <https://doi.org/10.20510/ukjpb/4/i4/110639>
- Pires-Gonçalves, L. C., De Souza-Trassi, M. A., Barbosa-Lopes, N., Dörr, F. A., Teixeira dos Santos, M., Baader, W. J., Oliveira, V. X., & Leite-Bastos, E. (2012). A comparative study of the purification of betanin. *Food Chemistry*,

131, 231–238. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.067>

- Rodríguez-Sánchez, J. A., Cruz y Victoria, M. T., & Barragán-Huerta, B. E. (2017). Betaxanthins and antioxidant capacity in *Stenocereus pruinosus*: Stability and use in food. *Food Research International*, 91, 63–71. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.11.023>
- Sandate-Flores, L., Rodríguez-Rodríguez, J., Velázquez, G., Mayolo-Deloisa, K., Rito-Palomares, M., Torres, J. A., & Parra-Saldívar, R. (2020). Low-sugar content betaxanthins extracts from yellow pitaya (*Stenocereus pruinosus*). *Food and Bioproducts Processing*, 121, 178–185. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.02.006>
- Sant’Anna, V., Gurak, P. D., Ferreira Marczak, L. D., & Tessaro, I. C. (2013). Tracking bioactive compounds with colour changes in foods – A review. *Dyes and Pigments*, 98(3), 601–608. <https://doi.org/10.1016/J.DYEPIG.2013.04.011>
- Stintzing, F. C., & Carle, R. (2007). Betalains - emerging prospects for food scientists. *Trends in Food Science and Technology*, 18(10), 514–525. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.04.012>
- Stintzing, F. C., Herbach, K. M., Mosshammer, M. R., Carle, R., Yi, W., Sellappan, S., Akoh, C. C., Bunch, R., & Felker, P. (2005). Color, betalain pattern, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia* spp.) clones. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(2), 442–451. <https://doi.org/10.1021/jf048751y>
- Stintzing, F. C., Schieber, A., & Carle, R. (2003). Evaluation of colour properties and chemical quality parameters of cactus juices. *European Food Research and Technology*, 216, 303–311. <https://doi.org/10.1007/s00217-002-0657-0>
- Uchegbu, N., Nnamocha, T., & Ishiwu, C. (2020). Natural food colourants juxtaposed with synthetic food colourant: a review. *Pakistan Journal of Nutrition*, 19(8), 404–419. <https://doi.org/10.3923/pjn.2020.404.419>
- Vargas-Campos, L., Valle-Guadarrama, S., Martínez-Bustos, F., Salinas-Moreno, Y., Lobato-Calleros, C., & Calvo-López, A. D. (2018). Encapsulation and pigmenting potential of betalains of pitaya (*Stenocereus pruinosus*) fruit.

Journal of Food Science and Technology, 55(7), 2436–2445.
<https://doi.org/10.1007/s13197-018-3161-7>

6 CONCLUSIONES GENERALES

Los frutos de pitaya presentan gran variación en forma, tamaño, color y sabor, durante la fase de campo se encontraron 15 variantes de la especie *S. pruinosus*, 15 variantes de la especie *S. stellatus* y tres de la especie *S. queretaroensis*, de la mayoría se tiene nula información en cuanto a su composición proximal, sus características químicas y contenido fitoquímico, en el presente trabajo sólo se hizo la documentación fotográfica, por lo que aún falta mucho por hacer en las especies de éste género.

El uso del recubrimiento de goma guar y cera de abeja en acción conjunta con la refrigeración a 12 °C ayudó a disminuir la pérdida de peso por transpiración, así como a mantener una buena apariencia y calidad de los frutos; sin embargo, la adición del compuesto antimicrobiano no disminuyó significativamente el crecimiento de los hongos en el fruto, lo que pudo deberse al entrapamiento del aceite esencial en el recubrimiento y a la elevada humedad relativa en la cámara de almacenamiento. La vida de anaquel de los frutos se logró extender a 15 días después de la cosecha.

Por otro lado, el uso de 1-propanol y citrato de sodio permitió la formación de un sistema bifásico, mismo que favoreció desde la primera extracción separar betalaínas en betacianinas y betaxantinas. Después de 4 extracciones sucesivas de la fase inferior, se logró obtener un extracto rico en betacianinas y compuestos fenólicos pero con baja concentración de azúcares, por lo que el uso de sistemas de extracción acuosa en dos fases es una alternativa para obtener extractos con compuestos de interés sin la necesidad de emplear técnicas más complejas y caras. Además, los extractos obtenidos fueron estables en el tiempo al adicionarlos en una matriz alimenticia (leche de vaca) y brindaron coloraciones semejantes a la fresa y vainilla.

7 ANEXOS

7.1 Artículos publicados

Food and Bioprocess Technology
<https://doi.org/10.1007/s11947-021-02676-1>

ORIGINAL RESEARCH



Separation of Pitaya (*Stenocereus pruinosus*) Betaxanthins, Betacyanins, and Soluble Phenols Through Multistage Aqueous Two-phase Systems

Leticia García-Cruz¹ · Salvador Valle-Guadarrama¹ · Ramón Marcos Soto-Hernández² · Diana Guerra-Ramírez² · Holber Zuleta-Prada³ · María Teresa Martínez-Damián⁴ · Yenni Daniela Ramírez-Valencia⁵

Received: 27 February 2021 / Accepted: 7 June 2021

© The Author(s), under exclusive licence to Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2021

Abstract

Pitaya (*Stenocereus pruinosus*) fruits, particularly those of the red variant, contain betalains that can be used to pigment foods and provide tonalities in the range of red–purple to orange–yellow. If betalains are separated into betacyanins (Bc) and betaxanthins (Bx), the potential for using them can be improved. Betalains are usually mixed with sugars, which limit their use since sugars can alter sensorial properties, and with other bioactive compounds, such as polyphenols, which can be beneficial due to their antioxidant potential. The objective was to separate betalains and soluble phenols from pitaya fruits and conduct the partition of betalains into Bc and Bx by multistage aqueous two-phase systems (ATPS). Pulp of pitaya fruits (294.25 µg/g betalains, 146.63 µg/g soluble phenols, and 34.31 mg/g sugars) were processed at 25 °C with ATPS prepared with 6.57–34.05% sodium citrate (Na₃Cit) and 4.21–60.54% 1-propanol. Soluble phenols and sugars remained mainly in the bottom phases of ATPS with concentrations of 69.33–190.90 µg/mL and 20.89–45.88 mg/mL, respectively. The extraction efficiency of betalains was higher than 90% and these were separated into Bc and Bx, where Bc concentrated in the bottom phase and Bx in the top phase. Fractions with Bx/Bc ratios of 10.25 and 0.46 were obtained through multistage processing of top and bottom phases, which allowed recoveries of 45.94% Bx and 53.93% Bc, although the latter was in mixture with low concentrations of soluble phenols and sugars. ATPS has the potential to separate betacyanins and betaxanthins from pitaya fruits.

Keywords: Aqueous two-phase systems, Betalain partitioning, Pitaya fruit polyphenols, Sugar elimination from pigment

Shelf life of pitaya [*Stenocereus pruinosus* Otto ex Pfeiff.) Buxb.] fruit affected by temperature and guar gum, beeswax, oleic acid, and thyme essential oil coatings

Vida de anaquel de frutos de pitaya [*Stenocereus pruinosus* Otto ex Pfeiff.) Buxb.] afectada por temperatura y recubrimientos de goma guar, cera de abeja, ácido oleico y aceite esencial de tomillos

Leticia García-Cruz¹ , Diana Guerra-Ramírez² , María Teresa Martínez-Damián³ ,
Holber Zuleta-Prada² , Salvador Valle-Guadarrama^{1*} 

¹Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Universidad Autónoma Chapingo (UACH), Carr. México-Texcoco km 38.5, Chapingo, 56230, Texcoco de Mora, Estado de México, México.

²Laboratory of Natural Products, Departamento de Preparatoria Agrícola (UACH).

³Departamento de Fitotecnia (UACH).

*Corresponding author: svalleg@taurus.chapingo.mx

Received:

October 27th, 2020

Acceptance date:

February 7th, 2021

Online publication date:

June 11th, 2021

Este es un artículo en acceso abierto que se distribuye de acuerdo a los términos de la licencia Creative Commons.



ABSTRACT

Pitaya [*Stenocereus pruinosus* Otto ex Pfeiff.) Buxb.] produces fruit with high commercialization potential, but its shelf life is limited to few days. The objective of this study was to apply biopolymeric coatings to extend the shelf life of pitaya fruits at 25 °C and under refrigeration at 12 °C. The following variables were handled at each temperature: fruits without any treatment (Control), fruits coated with 1000 ppm emulsion of thyme essential oil, and fruits coated with 1% emulsion of guar gum, 7.5% beeswax, and 7.5% oleic acid, without essential oil, and with 1000 ppm of thyme essential oil. Shelf life was 6 d at 25 °C, without the beneficial effect of coatings, but increased to 15 d with refrigeration and coatings based on guar gum, beeswax, and oleic acid, since fungal growth was delayed, and weight loss was reduced. This allowed fresh appearance without significant modification of color, firmness, pH, total soluble solids, titratable acidity, contents of soluble phenols and betalains, and antioxidant capacity.

KEYWORDS

Antioxidant capacity, betalains, biopolymers, postharvest quality, refrigeration, soluble