

## Estabilidad de betalainas en pulpa de tuna (*Opuntia boldinghii* Br. et R.) sometidas a un proceso de liofilización

Stability in betalains from tuna pulp (*Opuntia boldinghii* Br. et R.) submitted to a lyophilization process

A. Viloría-Matos<sup>1</sup>, D. Corbelli-Moreno<sup>1</sup>, M. J. Moreno-Alvarez<sup>1</sup> y D. R. Belén C<sup>1</sup>

### Resumen

Se evaluó la estabilidad química de los pigmentos betalainicos presentes en la pulpa de frutos de *Opuntia boldinghii* Br. et R. sometidos a un proceso de liofilización. Los frutos fueron seleccionados utilizando como criterio: madurez de consumo, color rojo homogéneo, sin rastros de deterioro y pertenecientes a la cosecha Julio-1999. El muestreo se efectuó en el municipio Montalbán, estado Carabobo, Venezuela. Se dispuso de 100,0 ± 0,1 mL de pulpa obtenidos sobre una bandeja de un liofilizador MLW LGA-05. Las condiciones experimentales fueron: 12 horas de proceso, 9331 N/m<sup>2</sup> de presión manométrica, -20 °C de temperatura de la cámara y 20 °C de temperatura de la placa. El diseño experimentalmente fue totalmente aleatorio y en triplicado. Se efectuaron evaluaciones mediante espectros de absorción visible (400-580 nm) y determinaciones de la concentración del pigmento betacianina ( $E^{1\text{ cm } 1\%}: 1120 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) a los 30, 60 y 90 días al producto liofilizado. La caracterización de la pulpa arrojó los siguientes valores: °Brix 10,0, pH 4,93 y acidez 0,038 g de ácido cítrico/100 g de pulpa. La pulpa liofilizada presentó un valor máximo de absorbancia a 537 nm. No se observó desplazamiento bacterocrómico asociado a efectos oxidativos. La concentración de betacianina (0,05 - 0,08 g/L) no varió significativamente en las evaluaciones ( $P < 0,05$ ). El producto liofilizado alcanzó una duración de más 90 días de almacenamiento, lo cual permitió mejorar el tiempo de vida útil de las betalainas presentes.

**Palabras clave:** *Opuntia*, betalainas, liofilización, tuna, pigmentos.

---

Recibido el 11-1-2002 ● Aceptado el 3-5-2002

1. Universidad Simón Rodríguez, Ingeniería de Alimentos, Laboratorio de Biomoléculas, Núcleo Canoabo, Municipio Canoabo, Sector Los Naranjos, Carretera nacional vía Urama, estado Carabobo, República Bolivariana de Venezuela. Tel-Fax: 58-249-7932716-7971184. Email morenoalvarez@hotmail.com

## Abstract

In this research, the chemical stability of betalainic pigments present in the lyophilized pulp obtained from *Opuntia boldinghii* Br. et R fruits was evaluated. Fruits harvested in Montalbán, Carabobo state, Venezuela (July 1999), were sampled according to the following criteria: consumption maturity, homogeneous red color, absence of deterioration traits.  $100.0 \pm 0.1$  of pulp were lyophilized in a MLW LGA-05 lyophilizer under the following experimental conditions: time process 12 h, manometric pressure  $9331 \text{ N/m}^2$ , chamber temperature  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  and plate temperature  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ . A totally random design with three repetitions was applied. Visible absorption spectrum evaluations (400-580 nm) and determination of betacyanin ( $E^{1\text{cm}} 1\%: 1120 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) pigment at 30, 60 y 90 days were effectuated. The pulp characteristics were: °Brix 10.0, pH 4.93 and acidity 0.038 g of citric acid /100 g of pulp. The lyophilized pulp showed maximum absorbance at 537 nm. Bactochromic shift was not observed. The changes in betacyanin concentration (0.05 - 0.08 g/L) were not significant ( $P < 0.05$ ). The betalains useful life time was improved with the lyophilizing process applied to the pulp, and it was greater to 90 days.

**Key words:** *Opuntia*, betalains, lyophilization, tuna, pigments.

## Introducción

Algunos autores señalan que los frutos de especies pertenecientes al género *Opuntia*, pueden ser utilizados en la confección de mermeladas, harinas, productos deshidratados, conservas y son fuente importante de colorantes naturales (10, 11, 15). Sin embargo, en Venezuela su aprovechamiento está limitado al consumo fresco de los frutos, debido a dificultades en el manejo poscosecha (17). Entre los metabolitos mayoritarios encontrados en los frutos de *Opuntia* se han señalado a las betalainas (17, 18). Químicamente son moléculas solubles en agua, derivadas del ácido betalámico, que se clasifican en dos grupos: los rojos o betacianinas y los amarillos o betaxantinas. La importancia biológica de estos compuestos es variada y se ha

determinado que pueden presentar actividad antiviral y antibacterial, ser marcadores taxonómicos y filogenéticos, estar involucrados en el papel de atracción de dispersores de semillas y/o polinizadores, además de ser pigmentos naturales de alimentos. Sin embargo por ser moléculas de gran sensibilidad química esta limitada su aprovechamiento integral en la industria alimentaria, ya que amerita controles enzimáticos eficientes, procedimientos adecuados de extracción y utilización de atmósferas controladas (5, 6, 7, 8).

El proceso de liofilización presenta una alternativa para la conservación de pigmentos termolábiles y fotooxidables, debido a que se efectúa a temperaturas y presiones bajas, logrando disminuir la

actividad de agua, razón por la cual los pigmentos logran aumentar su vida útil (4,16).

*Opuntia boldinghii* Br. et R. pertenece a la Familia Cactaceae, su hábitat natural es frecuente en zonas semiáridas, teniendo un potencial de adaptabilidad en otras regiones. En Venezuela se encuentra localizada en la región de la Costa (9). Estudios recientes han demostrado que esta especie tiene un potencial pigmentario

debido a la presencia del compuesto rojo betacianina (18), sin embargo su utilidad como pigmento está limitado por el deterioro poscosecha del fruto.

El objetivo de esta investigación fue liofilizar muestras de pulpa provenientes de frutos de *O. boldinghii*, con la finalidad de aumentar la vida útil de los pigmentos betalámicos presentes obtenidos de un cultivo con baja exigencia cultural y de escaso potencial comercial en el país.

## Materiales y métodos

### Etapas preliminares

Se colectaron doce frutos de dos árboles de *O. boldinghii*, provenientes del municipio Montalbán, estado Carabobo, Venezuela al Laboratorio de Biomoléculas, municipio Canoabo. Los criterios de selección fueron: presentar madurez de consumo, color rojo homogéneo, sin rastros de deterioro y pertenecientes a la cosecha Julio-1999. El transporte se efectuó mediante cavas de anímona convencional acondicionadas con CO<sub>2</sub> (sólido). La temperatura alcanzada fue de 7,0 ± 1,0 °C. Las muestras fueron lavadas con agua corriente y secadas posteriormente con papel absorbente. Se cortaron con cuchillos de acero inoxidable en trozos de tamaño variable, para ser procesados en un extractor de zumo (marca Eastern Electricâ, modelo JX5000) previa remoción manual de las espinas. El peso total de los frutos fue de 501,0 ± 0,1 g (con un peso promedio de 38,0 ± 0,1 g). Se obtuvo 283,0 ± 0,1 g de pulpa. La caracterización fisicoquímica de la pulpa se efectuó siguiendo la metodología AOAC (1). Los

sólidos solubles se expresaron como °Brix determinándose con un refractómetro marca Baush & Lomb modelo Abbe-3L y acidez iónica mediante potenciómetro Hanna Instruments, modelo pHepÒ 1 expresando los resultados como promedios de tres determinaciones.

### Identificación del pigmento betalainico mayoritario del fruto de *O. boldinghii*

La identificación del pigmento betalainico mayoritario se efectuó utilizando el procedimiento establecido por Viloria-Matos *et al.* (18) y Bilyk (2). Se purificaron patrones obtenidos de las raíces de remolacha (*Beta vulgaris* L.) con la finalidad de compararlos con espectros de absorción visibles en un rango de 400-580 nm mediante espectrofotómetro (marca Baush & Lomb, modelo spectronic 20) a un valor de pH 6,1 contra un blanco de agua destilada.

### Proceso de liofilización

Se tomaron 100,0 ± 0,1 mL de pulpa obtenida y se colocaron sobre la bandeja de un equipo de liofilización a

nivel piloto (MLW LGA-05). Las condiciones experimentales fueron de 12 horas de duración, presión manométrica de 9331 N/m<sup>2</sup>, temperatura de la cámara -20 °C y 20 °C temperatura de la placa. La escogencia de estos parámetros garantiza la sublimación del agua, paso necesario en el proceso de liofilización (17). El producto liofilizado fue envasado en frascos de vidrio envueltos en papel aluminio. El diseño experimental fue totalmente aleatorio con tres repeticiones.

### **Estabilidad química de la pulpa liofilizada**

Con la finalidad de evaluar la estabilidad química de la pulpa liofilizada, se efectuaron determinaciones espectrales de los compuestos betalaínicos presentes, durante 90 días en intervalos de 30 días mediante un espectrónico 20 marca Bausch & Lomb en rango de 400-580

nm contra un blanco de agua destilada. Las muestras se tomaron con capilares de vidrio recolectando un peso fijo de 0,020 ± 0,001 g diluyéndolas en volúmenes fijos de 30,0 ± 0,1 mL de agua destilada.

### **Determinación del contenido de betacianina en el liofilizado**

El contenido de betalainas se determinó midiendo la absorbancia a 537 nm a pH 6,1 y la concentración se calculó utilizando el coeficiente de extinción molar del pigmento mayoritario (betacianina: E<sup>1cm</sup> 1%:1120 L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>) (12,13,17,18,19), según procedimiento establecido por Sapers y Hornstein (13).

### **Análisis estadístico**

Los resultados de las evaluaciones mensuales, se analizaron mediante análisis de varianza (P<0,05), utilizando el paquete estadístico SAS (14).

## **Resultados y discusión**

La evaluación fisico-química de los frutos se presenta en el cuadro 1. Los valores determinados en esta investigación están dentro de los rangos reportados en la literatura, para especies del género *Opuntia* (10, 11, 15).

En la figura 1 se presentan los espectros visibles (en un rango de 400-580 nm) obtenidos del pigmento mayoritario purificado aislado de los frutos de *O. boldinghii* y el patrón de betacianina obtenido de las raíces de *B. vulgaris*. Los dos espectros presentan valores de absorbancia máxima (l) a 537 nm en un valor de

pH 6,1, que coincide con el valor señalado por otros autores para la betacianina (2, 3, 6,18). La comparación espectral entre el patrón puro de betacianina obtenido a partir de frutos maduros de *B. vulgaris* con el compuesto rojo extraído de frutos de *Opuntia boldinghii* Br. et R. evidencian definitivamente que se trata de estructuras químicas similares.

En la figura 2 se muestran los espectros de absorción promedios de las tres evaluaciones efectuadas en el tiempo. Las curvas presentan picos de absorbancia máxima a 537 nm, comportamiento típico de betacianina

**Cuadro 1. Caracterización físico-química de frutos de *O. boldingii*\***

% Humedad	°Brix	pH	% Acidez+
88,40 ± 0,02	10,0 ± 0,1	4,93 ± 0,01	0,04 ± 0,01

\* Promedios de tres repeticiones ± desviación estándar

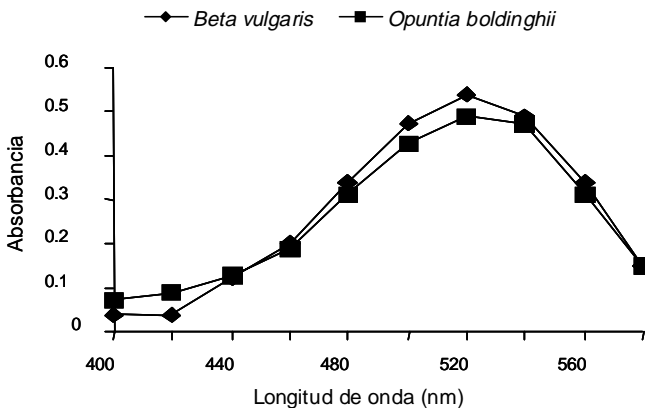
+ Expresados en g de ácido cítrico/100 g de pulpa

(18,19). Los espectros obtenidos no presentaron ningún desplazamiento bacterocrómico asociado a eventos oxidativos.

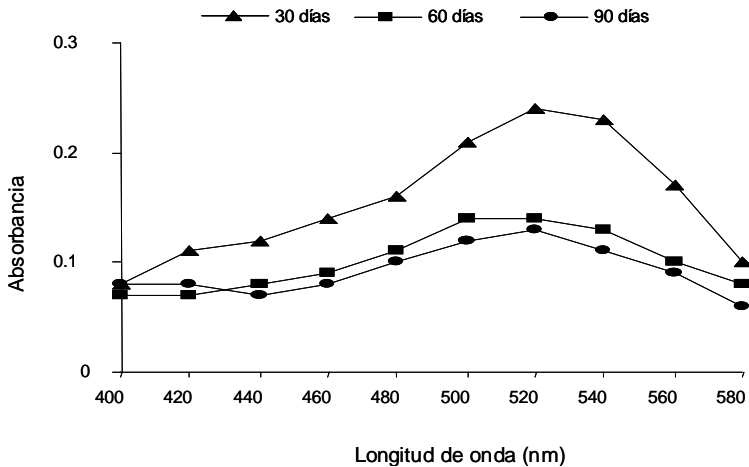
El contenido de betacianina para las tres evaluaciones se presenta en el cuadro 2. No se determinaron diferencias significativas entre las evaluaciones ( $P < 0,05$ ). Lo cual sugiere que el proceso de liofilización a nivel piloto se alcanzó eficientemente bajo las condiciones experimentales descritas previamente (12 horas de duración, presión de 70 mmHg, -20 °C temperatura de la cámara y 20 °C temperatura de la placa). Los

resultados indican que los pigmentos presentes en la pulpa liofilizada, presentaron una buena estabilidad química durante, los 90 días de estudio. A este respecto Torrez *et al.*, (16) determinaron un comportamiento similar para carotenoides extraídos de *Carica papaya* L. Ambas investigaciones evidencian que los compuestos presentaron fácil recuperación e importante estabilidad química utilizando para ello un equipo similar de liofilización a nivel piloto (MLW LGA-05).

Los resultados presentados en este estudio evidencian que el proceso



**Figura 1. Espectros de absorción del patrón de betacianina purificado de raíces de *Beta vulgaris* y del pigmento mayoritario de frutos de *Opuntia boldingii***



**Figura 2. Espectros de absorción de la pulpa liofilizada a los 30, 60 y 90 días.**

de liofilización aumentó la vida útil de los pigmentos betalamicos, sin perder sus propiedades originales y permiten establecer el potencial pigmentario de los frutos *O. boldinghii* bajo manejo tecnológico adecuado. Algunos autores han señalado que la estabilidad química de las betalainas obtenidas de otras fuentes como *B. vulgaris*

sometidos a una liofilización presentaron deterioro, degradación, asociado a la presencia de trazas de minerales y la actividad de agua (5), lo cual permite suponer que esos factores limitantes no están presentes en las muestras de pulpa liofilizadas, ya que los productos obtenidos no presentaron deterioro.

**Cuadro2. Contenido de betacianina en la pulpa liofilizada de *O. boldinghii*\* durante el periodo de almacenamiento.**

Tiempo(días)	g/L betacianina
30	0,08 ± 0,01 a
60	0,05 ± 0,02 a
90	0,05 ± 0,01 a

Medias seguidas de letras similares no presentaron diferencias significativas (P<0,05)  
 \* valores promedios de tres determinaciones ± desviación estándar.

## Conclusiones

El contenido de betalainas presente en los frutos de *O. boldinghii* y la utilización de un adecuado manejo tecnológico permiten establecer que esta especie de cultivo marginal y de escasa explotación comercial presenta un importante potencial pigmentario.

El producto liofilizado alcanzó una duración de más 90 días de almacenamiento, lo cual permitió mejorar el tiempo de vida útil de las

betalainas presentes.

La fácil recuperación y alta solubilidad en agua sugiere la factibilidad técnica de la utilización de colorantes naturales como sustituto de pigmentos artificiales sintéticos para alimentos humanos.

Se concluye que el proceso de liofilización se alcanza eficientemente bajo las condiciones experimentales señaladas.

## Agradecimientos

Esta investigación fue financiada por el Programa Proyecto Emergentes Pem-2001002271 del FONACIT y S1-01-001 de la Universidad Simón Rodríguez. El Dr. Baltazar Trujillo de la Universidad Central de Venezuela, Maracay identificó gentilmente la

especie estudiada. La Dra. Carmen Sáenz de la Universidad de Chile efectuó lecturas críticas al manuscrito original. La Familia Blanco donó los frutos estudiados. A todos ellos nuestro sincero agradecimiento.

## Literatura citada

1. Association of Official Analytical Chemist (AOAC). 1995. Official Methods of Analysis. 15th Ed. Washington D.C.
2. Bilyk, A. 1979. Extractive Fractionation of Betalaines. *J. Food Sci.* 44:1249-1251.
3. Bilyk, A. Thin-Layer Chromatographic Separation of Beet pigments. *J. Food Sci.* 46:298-299. 1981.
4. Brennan, J., J. Butters, N. Cowell y A. Lilly. 1980. Las operaciones de la ingeniería de los alimentos. Zaragoza, Editorial Acirbia, 2da edición.
5. Cohen, E. y Y. Saguy. 1980. Effect of water activity and moisture content on the stability of Beet powder pigments. *J. Food Sci.* 48:703-707. 1983.
6. Delgado-Vargas, F., A. R. Jiménez y O. Paredes-López. 2000. Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins and Betalains-Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 40(3):173-289.
7. Huang, A.S. y J. H. Von Elbe. 1985. Kinetics of the degradation and regeneration of Betanine. *J. Food Sci.* 50:1115-1120.
8. Moreno-Alvarez, M.J., A. Viloria-Matos y D. Belén. 2002. Degradación de betalainas en remolacha (*Beta vulgaris* L.): Estudio cinético. *Revista Científica FCV-LUZ XII* (2): 133-136.

9. Ponce, M. 1989 Distribución de Cactáceas en Venezuela y su ámbito mundial. Trabajo de Ascenso. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela.
10. Sáenz, C. 1997. Usi potenziali del frutto e dei cladodi di ficodindia nell'industria alimentare. Revista di frutticoltura 12:47-51.
11. Sáenz, C., A. M. Estévez, E. Sepúlveda y P. Mecklenburg. 1998. Cactus pear fruit: A new source for natural sweetener. Plant. Foods Hum. Nutr. 52:141-149.
12. Saguy, Y., J. Kolpelman y S. Mizrahi. 1978. Computer-aided determination of beet pigments. J. Food Sci. 43:124-127.
13. Sapers, G.M. y J. S. Hortein. 1979. Varietal Differences in Colorant properties and stability of red Beet Pigments. J. Food Sci. 44:1245-1248.
14. Statistical Analysis System Institute.(SAS). 1992. User's guide. SAS. Statgraphics. Versión 6.0. E.U.A.
15. Sepúlveda, E., C. Sáenz y M. Alvarez. 2000. Physical, Chemical and sensory Characteristics of Dried fruit sheets of cactus pear (*Opuntia ficus* L.) Mill and quince (*Cydonia oblonga* Mill). Ital. J. Food Sci. 1(12):47-54.
16. Torrez, V., B. Avalo y M. J. Moreno-Alvarez. 2000. Estabilidad de carotenoides provenientes del pericarpio de lechosa *Carica papaya* L. sometido a liofilización parcial. Rev. UNELLEZ Cien. Tec. 18:12-22.
17. Viloria-Matos, A. y D. Corbelli-Moreno. 2001. Evaluación del contenido y estabilidad de betalainas en pulpa de fruto *Opuntia boldinghii* Br. et R. Tesis de Ingeniería de Alimentos. Laboratorio de Biomoléculas. Universidad Simón Rodríguez. Canoabo. Venezuela.
18. Viloria-Matos, A., M. J. Moreno-Alvarez y D. Hidalgo-Báez. 2001. Isolation and identification of betacyanin *Opuntia boldinghii* Br. et R. by HPTLC. Ciencia y Tecnología alimentaria. 3 (3):140-143.
19. Wiley, R. y Y. Lee. 1978. Recovery of Betalaines from red beets by a diffusion-extraction procedure. J. Food Sci. 43:1056-1058.