

Efecto de un tratamiento enzimático sobre la viscosidad, contenido de betacianinas y color de una pulpa de pitahaya (*Hylocereus polyrhizus*)

Andrés Murillo-Rojas¹ , Marta Bustamante-Mora^{1,2,3} , Eric Wong-González^{2,3}  & Manuel Montero-Barrantes³ 

1. Universidad de Costa Rica, Sede Regional de Guanacaste, Escuela de Tecnología de Alimentos, Ingeniería de Alimentos; Liberia, Guanacaste, Costa Rica; murillo.a1997@gmail.com, marta.bustamante@ucr.ac.cr
2. Universidad de Costa Rica, Facultad de Ciencias Agroalimentarias, Escuela de Tecnología de Alimentos, San Pedro de Montes de Oca, Costa Rica; eric.wong@ucr.ac.cr
3. Universidad de Costa Rica, Facultad de Ciencias Agroalimentarias, Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CITA), San Pedro, Montes de Oca, San José, Costa Rica; manuel.monterobarrantes@ucr.ac.cr

Recibido 27-VI-2024 • Corregido 12-VII-2024 • Aceptado 17-VII-2024

DOI: <https://doi.org/10.22458/urj.v16i1.5308>

ABSTRACT. “Effect of an enzymatic treatment on the viscosity, betacyanin content and color of a pitahaya pulp (*Hylocereus polyrhizus*)”. **Introduction:** Pitahaya is a fruit with an attractive composition for consumers whose pulp has great potential for the development of functional and innovative food products. One of the main challenges is to produce a stable pulp with a viscosity that facilitates its handling during processing. **Objective:** To evaluate enzymatic maceration conditions that allow improving the rheological properties of pitahaya pulp by reducing its viscosity, with the least possible effect on betacyanins and color. **Methods** We evaluated the conditions of the enzymatic treatment by measuring the change in the viscosity of the pitahaya pulp, the concentration of betacyanins and the instrumental color using a rotating composite central design, considering two factors: enzyme concentration and maceration time. For the design points, the enzyme concentration was between 109,8g/ton and 640,2g/ton and the time between 1,0h and 3,5h; For the axial points, the minimum level of enzyme concentration was 0g/ton and the maximum was 750g/ton and with respect to time, the minimum was 0,5h and the maximum was 4,0h, being the central point of 375g/ton of enzyme and 2,3h maceration time. **Results:** The enzyme treatment evaluated allows a significant reduction in pulp viscosity with a low impact on betacyanins (92% average retention), while changes in instrumental color parameters that are not considered negative. **Conclusion:** The enzymatic treatment allows the viscosity reduction of the pitahaya pulp with little impact on compounds and characteristics of importance in this product. This has potential industrial application for handling and stabilization of a pulp that can be used for the development of various food products, allowing the valorization and use of the fruit.

RESUMEN. Introducción: La pitahaya es un fruto con gran potencial para el desarrollo de productos alimenticios funcionales e innovadores. Uno de los principales retos es producir una pulpa estable y con una viscosidad que facilite su manejo durante el procesamiento. **Objetivo:** Evaluar condiciones de maceración enzimática que permitan mejorar las propiedades reológicas de la pulpa de pitahaya al reducir su viscosidad, con la menor afectación posible de las betacianinas y el color. **Metodología:** Evaluamos las condiciones del tratamiento enzimático midiendo el cambio de la viscosidad de la pulpa de pitahaya, la concentración de betacianinas y el color instrumental mediante un diseño central compuesto rotatable, considerando dos factores: concentración de enzima (Rapidase fiber de DSM) y tiempo de maceración. Para los puntos de diseño, la concentración de enzima estuvo entre 109,8 g/ton y 640,2g/ton y el tiempo entre 1,0h y 3,5h; para los puntos axiales, el nivel mínimo de concentración de la enzima fue de 0g/ton y el máximo de 750g/ton y con respecto al tiempo, el mínimo fue de 0,5h y el máximo de 4,0h, siendo el punto central de 375g/ton de enzima y 2,3h de maceración. **Resultados:** El tratamiento enzimático evaluado permitió una reducción significativa de la viscosidad de la pulpa con una baja afectación sobre las betacianinas (92% de retención promedio), mientras que los cambios en los parámetros de color instrumental que no se consideran negativos. **Conclusión:** El tratamiento enzimático permite la reducción de viscosidad de la pulpa de pitahaya con poca afectación en compuestos y características de importancia en este producto. Esto tiene potencial aplicación industrial para el manejo y estabilización de una pulpa, que puede utilizarse en la elaboración de diversos productos alimenticios, permitiendo la valorización y aprovechamiento de la fruta.

Keywords: Rheological properties, valorization, optimization, stabilization, sensory characteristics and innovation.

Palabras clave: Propiedades reológicas, valorización, optimización, estabilización, características sensoriales, innovación.

La pitahaya es una fruta considerada como exótica debido principalmente a su forma. Es una baya grande, ovoide, con cáscara de color rojo-fucsia o amarillo, dependiendo de la especie, y brácteas que sobresalen de su superficie. La pulpa de algunas especies, como la *Hylocereus polyrhizus*, puede presentar coloraciones intensas y llamativas en tonalidades fucsia o roja, debido al contenido de betacianinas. También tiene un sabor poco dominante y presenta una gran cantidad de pequeñas semillas de color negro (Esquivel & Araya, 2012; Le Bellec & Vaillant, 2011; Wu et al., 2019). Este fruto posee propiedades funcionales y nutricionales debido a su contenido de betalaínas (entre ellas las betacianinas), además de compuestos fenólicos, polisacáridos, terpenoides, vitamina C, fibra, y minerales como calcio y fósforo. El consumo diario de pitahaya se ha relacionado con la prevención y disminución del riesgo de sufrir enfermedades relacionadas con el síndrome metabólico, desórdenes de estrés oxidativo y ciertas demencias (Gengatharan et al., 2015; Jeronimo et al., 2017; Jiang et al., 2021; Joshi & Prabhakar, 2020; Teixeira et al., 2019; Verona-Ruiz et al., 2020).

Debido al atractivo que ofrece esta fruta, la producción mundial ha presentado un aumento acelerado y se están desarrollando nuevos cultivos frutales en diferentes regiones (Wu et al., 2019). En Costa Rica la pitahaya se ha producido de forma silvestre sobre árboles, troncos secos, piedras o muros; no obstante, determinadas zonas del país presentan condiciones favorables para su cultivo comercial (García & Quirós, 2010). En los últimos años se ha venido desarrollando el cultivo de pitahaya en el país, especialmente de la especie *H. polyrhizus*, con tres variedades principales: orejona, lisa y rosa. Estas frutas presentan diferencias morfológicas; sin embargo, las pulpas tienen características similares (Esquivel et al., 2007a; Ortiz & Takahashi, 2015), por lo que no se separan para su comercialización y procesamiento.

La pitahaya tiene una vida útil corta, de aproximadamente una semana almacenada a 20°C, por lo que el tiempo para su consumo es reducido, ya que al llegar a una madurez excesiva se da paso al desarrollo de procesos de fermentación y la pérdida de la calidad de la fruta, variando su composición y características sensoriales (Le Bellec & Vaillant, 2011; Magalhães et al., 2019; Wu et al., 2019). Por ello, el procesamiento tiene gran relevancia tanto para prolongar la vida útil como para dar un mayor valor al producto y ofrecer así diversas alternativas de consumo que amplíen las oportunidades de comercialización (Liaotrakoon, 2013; Ulloa, 2017).

Una opción de valorización es la elaboración de una pulpa estable para la elaboración de productos a nivel doméstico o en servicios de alimentación, o como materia prima en la fabricación de diversos productos industriales como bebidas, helados, rellenos para repostería, salsas, jaleas y mermeladas, y muchas opciones más.

La obtención de la pulpa se caracteriza por los bajos rendimientos, ya que la cáscara representa casi un 50% de peso, tiene además un alto contenido de semillas y una consistencia mucilaginosas, generando una matriz difícil de procesar (Magalhães et al., 2019; Wu et al., 2019). Para evitar las situaciones adversas que se presentan con fluidos complejos como la pulpa de pitahaya, se ha estudiado la aplicación de tratamientos enzimáticos que buscan degradar determinados compuestos para disminuir la viscosidad de esta matriz, de forma que sea manejable durante su uso y procesamiento. En ese sentido, destacan algunas investigaciones donde se evalúa la aplicación de estos tratamientos que permiten modificar la reología de la pulpa de pitahaya. Enzimas como pectinasas, galacturonasas y celulasas son las más utilizadas para esta aplicación, debido al mecanismo de acción y a la especificidad respecto al sitio activo donde actúan. En varios

estudios se han obtenido resultados positivos para la industria alimentaria, como el aumento en los rendimientos de extracción, reducción de viscosidad y mejora en los procesos de clarificación enzimática de pulpa de pitahaya (Dávila, 2005; Nur'Aliaa et al., 2010; Phuong & Tuan, 2016). Es importante señalar que la aplicación de determinadas operaciones puede afectar las betacianinas, produciendo cambios en el color y afectando su potencial funcional. Esto se debe a que estos compuestos son sensibles a las altas temperaturas y se generan reacciones de hidrólisis, modificando la estructura original y, por ende, el color de la pulpa (Coy-Barrera, 2020).

En el presente estudio definimos condiciones de maceración enzimática, utilizando un preparado enzimático comercial disponible en el mercado local, con el fin de mejorar las propiedades reológicas de la pulpa de pitahaya al reducir su viscosidad, con la menor afectación posible de las betacianinas y el color. Con esto, buscamos reducir las dificultades tecnológicas durante su uso y procesamiento, derivadas de la viscosidad de la pulpa.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio lo desarrollamos entre julio y diciembre del 2022, en las instalaciones de la Carrera de Ingeniería de Alimentos de la Universidad de Costa Rica, Sede de Guanacaste. El procesamiento y los análisis de la pulpa lo llevamos a cabo en la Planta de Procesamiento y en el Laboratorio de Química de Alimentos, respectivamente.

Matriz alimentaria: La pitahaya (*Hylocereus polyrhizus*) fue suministrada por COOPEPITAHAYA R. L., en las condiciones usuales de comercialización de los productores, por lo que se nos proporcionaron frutas de tres variedades (orejona, rosa y lisa). Utilizamos la fruta proveniente de fincas ubicadas en la ciudad de Liberia y alrededores, así como de Jicaral. Hicimos uso de fruta firme, con cáscara entre 80-100% de tonalidad roja, sin indicios de daño por plagas o enfermedades.

Preparado enzimático: Utilizamos el preparado enzimático Rapidase Fiber, de la casa comercial DSM. A partir de la información detallada en la ficha técnica, menciona que esta enzima es una pectinasa líquida con actividad arabinolítica y celulolítica, la cual proviene de *Aspergillus niger* y de *Trichoderma longibrachiatum*, respectivamente. Además, posee actividades pectinasas específicas, endo exoarabanasas y otras actividades hemicelulasas y celulasas. Su mayor actividad se presenta a un pH entre 3,5 a 5,5 y a una temperatura entre 45°C y 55°C.

Su función principal está enfocada en el procesamiento de jugos ya que permite una avanzada extracción que incluyen una etapa de ruptura en caliente y simultáneamente disminuye la viscosidad de la pulpa, reduce el contenido de coloides del jugo, lo que permite una fácil separación del jugo de los sólidos con decantadores y prensas, al tiempo que facilita el procesamiento posterior.

Proceso de elaboración de la pulpa de pitahaya: Las frutas de pitahaya seleccionadas las lavamos manualmente con cepillos de cerdas suaves y agua potable para eliminar restos de materia orgánica y suciedad, luego las desinfectamos por inmersión en una disolución de hipoclorito de sodio a una concentración de 100ppm, por 2min. Cortamos las pitahayas de forma longitudinal en cuartos, con cuchillos afilados, y la cáscara la retiramos manualmente. Los trozos de fruta los procesamos en un despulpador de paletas, con un diámetro de apertura de la malla de 1,4mm (equivalente a mesh 12 Serie de Tyler), medido con un calibrador, donde obtuvimos la pulpa como producto principal y las semillas con restos de pulpa adherida como subproducto.

Trabajamos con un lote homogéneo de 15kg de pulpa. Para los ensayos, dividimos la pulpa en 13 muestras de 1,0kg cada una, empacadas en bolsas de polietileno de alta densidad (HDPE) y almacenadas a $-21,0^{\circ}\text{C}$. hasta su uso. El pH y contenido de sólidos solubles, medido como grados Brix ($^{\circ}\text{Brix}$) de la pulpa fresca fueron de 3,76 y 11,70, respectivamente.

Evaluación de las condiciones del tratamiento enzimático: Evaluamos las condiciones del tratamiento enzimático midiendo el cambio de la viscosidad de la pulpa de pitahaya, la concentración de betacianinas y el color instrumental.

Aplicamos un diseño central compuesto rotatable, considerando dos factores: concentración de enzima y tiempo de maceración. Para los puntos de diseño, la concentración de enzima estuvo entre 109,8g/ton y 640,2g/ton y el tiempo entre 1,0h y 3,5h; para los puntos axiales, el nivel mínimo de concentración de la enzima fue de 0g/ton y el máximo de 750g/ton y con respecto al tiempo, el mínimo fue de 0,5h y el máximo de 4,0h, siendo el punto central de 375g/ton de enzima y 2,3h el tiempo de maceración. Realizamos cinco repeticiones del punto central y una repetición de los puntos axiales y de diseño, para un total de 13 observaciones.

La pulpa congelada, la almacenamos en refrigeración hasta su descongelación, proceso que duró aproximadamente 12h a 4°C ; posteriormente aplicamos el tratamiento enzimático, según la combinación de los factores establecida en el diseño, de manera aleatoria. Cada tratamiento enzimático lo realizamos en un beaker de 1,0L con 800mL de pulpa. El recipiente lo introducimos en un baño con agua caliente de laboratorio a $70\pm 2^{\circ}\text{C}$ hasta que la pulpa alcanzó una temperatura de $50\pm 1^{\circ}\text{C}$ (10min aproximadamente). Seguidamente, disminuimos la temperatura del agua de forma que la pulpa se mantuvieran a una temperatura en equilibrio de $50\pm 2^{\circ}\text{C}$ y adicionamos el preparado enzimático, el cual lo diluimos en diez veces su volumen de agua para asegurar una mezcla adecuada del preparado en la pulpa. Agitamos la pulpa de forma constante con un agitador de hélice por el periodo de tiempo establecido en cada uno de los tratamientos del diseño. Para la inactivación enzimática, trasladamos el beaker a otro baño con agua a ebullición para aumentar la temperatura de la pulpa hasta los 80°C (5min aproximadamente) y enfriamos el recipiente en un baño con hielo (proporción 1 agua:1 hielo) hasta que la pulpa alcanzó 30°C (aproximadamente 25min).

Analizamos los datos de cambio en la viscosidad y concentración de betacianinas, obtenidos por la diferencia de valores de la pulpa tratada enzimáticamente con la pulpa fresca, así como los datos de los componentes del color (L , a^* , b^* , C^* , $^{\circ}\text{h}$), haciendo uso del software estadístico JMP® Pro 15. Para ello aplicamos un análisis de superficie de respuesta con un nivel de significancia de 0,05 (α). De forma adicional, para cada uno de los componentes de color, comparamos los valores promedio de las muestras control (pulpa fresca) con los promedios de las muestras tratadas, evaluando las diferencias de color asociadas con el tratamiento enzimático.

Métodos de análisis

- Determinación de pH: Utilizamos un pHmetro marca Hanna, modelo HI5221, calibrado con buffer ácido-neutro-básico de 4,01, 7,00 y 10,01 unidades de pH. Las mediciones las realizamos por triplicado a una temperatura de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, según el método 981.12 de AOAC (The Association of Official Analytical Chemists [AOAC], 2005).
- Determinación de los sólidos solubles ($^{\circ}\text{Brix}$): Utilizamos un refractómetro de Abbé, marca KRUSS, modelo AR2008, con una escala de $^{\circ}\text{Brix}$, donde cada muestra fue valorada por triplicado, a una temperatura de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, según el método 932.12 de AOAC, 2005.

- Determinación de humedad: Utilizamos una estufa convencional y una al vacío, ambas de marca Jeio Tech y se siguió la metodología descrita por Nielsen (2017) y el método 930.15 de AOAC, 2000.
- Determinación de la viscosidad: Utilizamos un viscosímetro de Brookfield, marca Thermo Scientific, modelo Haake Viscotester C, el cual funciona mediante el principio del torque requerido para mover un fluido mediante un usillo. En un beaker de 600mL colocamos aproximadamente 500mL de muestra a una temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Para medir la viscosidad configuramos el equipo a una velocidad de agitación de 100rpm, hicimos uso de los usillos dos o tres, según el rango de viscosidad aplicado al fluido analizado (Nur'Aliaa et al., 2010). Hicimos seis réplicas de una misma muestra. En todos los casos, una vez estabilizada la medición, tomamos el dato de centipoise (cP) a los 60s de agitación (Thermo Fisher Scientific, 2020).
- Determinación de la concentración de betacianinas: El contenido total de betacianinas lo determinamos, por triplicado, utilizando un espectrofotómetro marca JASCO, modelo V-730. Para realizar la cuantificación de la concentración de betacianinas en la pulpa seguimos el método descrito por Stintzing et al. (2003), donde se especifica que las muestras se diluyen con buffer McIlvain a pH 6,5 hasta lograr una absorbancia entre 0,80 y 1,00. Para las mediciones empleamos una longitud de onda de 538nm. Los datos finales los reportamos como concentración de betacianinas expresado como equivalente de betanina, en mg/L×kg de materia seca, mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Concentración de betacianinas (mg/L)} = (A \times FD \times MM \times 1000) / (\epsilon \times L)$$

Donde: A=absorbancia a 538nm, FD=factor de dilución, MM=peso molecular de la betanina (550g/mol), ϵ =coeficiente de extinción molar en H₂O (60,000L/mol cm), L=longitud de la trayectoria de la cubeta (1cm).

Los resultados los reportamos en base seca, considerando el contenido de humedad de las muestras.

- Color: El color de la pulpa de pitahaya lo analizamos utilizando un colorímetro marca Hunter Lab, modelo ColourFlex EZ, con una fuente de luz D65 y ángulo de apertura de 10° , haciendo uso de las escalas CIELAB y CIELCh. Seguimos el procedimiento descrito para la utilización del colorímetro ColourFlex EZ HunterLab (2018), en la determinación de los componentes de luminosidad visual, coordenadas cromáticas de rojo y verde, así como las coordenadas cromáticas de amarillo y azul (L^* , a^* y b^* , respectivamente). Esta determinación la realizamos primero calibrando el colorímetro con los patrones (tejas de color negro y blanco) y luego colocamos 40mL de pulpa en el portamuestras, lo tapamos y realizamos la medición de los parámetros del color. A partir de los parámetros a^* y b^* calculamos el valor del ángulo hue (h°) y Chroma (C^*).

RESULTADOS

A partir del tratamiento de la pulpa de pitahaya con el preparado enzimático, mostramos en la TABLA 1 como los valores promedio obtenidos a partir del cambio en la viscosidad en las muestras varían en un ámbito amplio, donde el menor cambio se obtuvo con el tratamiento donde no aplicamos enzima, mientras que el mayor cambio se presentó con uno de los tratamientos más intensos en cuanto a concentración de enzima y tiempo de tratamiento. Cabe resaltar que en todas las condiciones ensayadas observamos una reducción de la viscosidad, mostrando la efectividad del tratamiento enzimático; sin embargo, en el tratamiento donde la concentración de enzima fue 0, la cuantificación del cambio en la viscosidad se asocia a la variabilidad normal del proceso, a la composición, así como a la posible acción de enzimas endógenas presentes en la fruta que se activan por efecto del calor aplicado (Barreto et al., 2012; Le Bellec & Vaillant, 2011).

No obstante, ninguno de los factores considerados en el estudio presentó un efecto significativo sobre el cambio en la viscosidad (concentración de enzima $p=0,06473$, tiempo de maceración $p=0,80702$ y su interacción $p=0,75891$).

Para evidenciar la reducción de viscosidad lograda en la pulpa de pitahaya mediante la aplicación del tratamiento enzimático, calculamos el promedio general de la variable con el respectivo intervalo de confianza al 95%, obteniendo una reducción de $-170 \pm 20 \text{ cP}$.

TABLA 1

Cambio en la viscosidad relativa, así como el cambio en la concentración de betacianinas de la pulpa de pitahaya debido al tratamiento enzimático aplicado

Tratamiento		Cambio en la viscosidad (cP)	Cambio en la concentración de betacianinas (mg/L*kg de materia seca)**
Cn (g/ton)	T (h)		
750,0	2,3	-179,95	-215,19
640,2	1,0	-173,57	-62,88
640,2	3,5	-191,92	-458,00
375,0	0,5	-175,34	49,56
375,0	2,3	-179,48 $\pm$ 1,09*	-191,05 $\pm$ 183,84*
375,0	4,0	-183,33	-394,68
109,8	1,0	-173,65	-181,02
109,8	3,5	-172,43	-446,05
0,0	2,3	-39,91	-295,85

*Mostramos el promedio y se indica para el punto central la desviación estándar correspondiente como medida del error experimental.

**Tomamos como valor base una concentración de betacianinas de 2836,2669mg/L * kg de materia seca que corresponde a la pulpa fresca.

Con respecto a la concentración de betacianinas, indicada en la TABLA 1, determinamos que las probabilidades obtenidas indican que solo el factor tiempo ($p=0,00859$) fue significativo, mientras que el factor concentración de enzimas ($p=0,58050$) y la interacción de los factores ($p=0,64340$) no aportaron significancia al modelo. El menor cambio cuantificado en las muestras ocurrió a una concentración de enzima de 375g/ton durante 0,5h, mientras que el mayor cambio se presentó a una concentración de 640,2g/ton de enzima durante 3,5h. En la mayoría de las condiciones ensayadas observamos una reducción de la concentración de este compuesto, mostrando el efecto negativo del tratamiento enzimático sobre las betacianinas, lo cual está asociado con la exposición de la pulpa a temperaturas elevadas y tiempos prolongados (Herbach et al., 2006a, 2006b).

Adicionalmente, es importante resaltar que resultados negativos en el cambio significan la reducción del compuesto mientras que el resultado positivo se asocia con la variabilidad del proceso

y no a la generación o aumento en la detección del compuesto.

En la Fig. 1 mostramos el resultado de la regresión lineal donde evidenciamos el efecto significativo del tiempo de maceración sobre el cambio en la concentración de betacianinas ($p=0,0003$). Además, a partir de la determinación de la concentración inicial de betacianinas, calculamos el porcentaje de retención posterior a la aplicación del tratamiento enzimático, el cual fue del $91,97 \pm 0,04\%$ (IC al 95%).

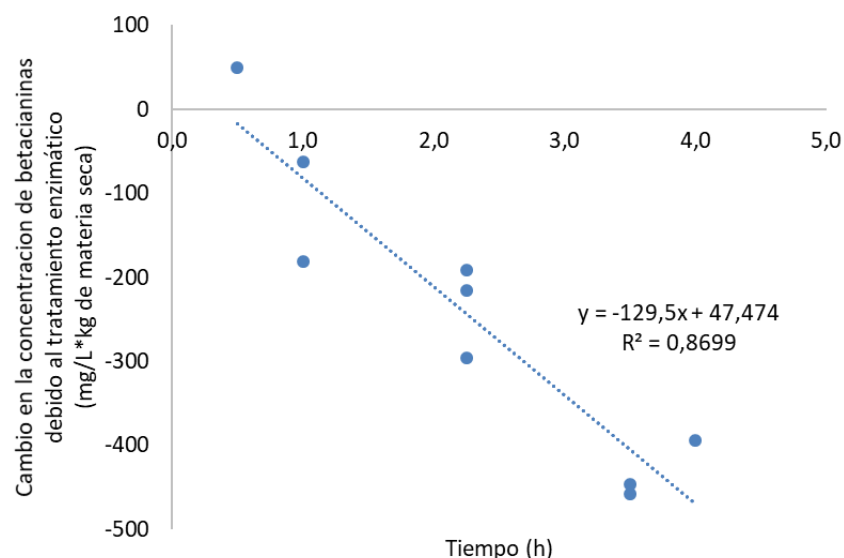


Fig. 1. Tendencia del cambio en la concentración de betacianinas presentes en la pulpa de pitahaya según el tiempo de maceración del tratamiento enzimático.

Respecto al color, se encontró significancia ($p \leq 0,0132$) de los factores concentración de enzima y tiempo de maceración y su interacción para los componentes de color a^* y C^* . También se encontró significancia ($p \leq 0,0415$) únicamente de la concentración y la interacción entre los factores para los componentes b^* y h° . Para el componente L^* , ningún factor fue significativo ($p \geq 0,2221$). Debido a que no se encontró un óptimo, comparamos los valores promedio para cada uno de los componentes de la escala de color de las pulpas tratadas respecto a la pulpa fresca (TABLA 2). Para los parámetros a^* y C^* , reportamos que no existe una diferencia significativa entre la pulpa tratada con respecto a la pulpa fresca ($p=0,2536$ y $p=0,1904$, respectivamente); sin embargo, los parámetros L^* , b^* y h° sí presentaron diferencias entre las pulpas ($p=0,0048$, $p < 0,0001$ y $p < 0,0001$, respectivamente). Esto indica que hay cambios en el color instrumental de la pulpa tratada.

TABLA 2

Promedio de los componentes de color, así como la comparación de medias entre la pulpa fresca y tratada enzimáticamente

Tratamiento	Valor promedio de los componentes de color ¹				
	L^*	a^*	b^*	C^*	h°
Pulpa fresca	$2,8 \pm 0,1^a$	$16,4 \pm 0,4^a$	$-0,18 \pm 0,08^a$	$16,4 \pm 0,4^a$	$359,4 \pm 0,3^a$
Pulpa con tratamiento enzimático	$3,0 \pm 0,1^b$	$16,8 \pm 0,6^a$	$1,6 \pm 0,3^b$	$16,8 \pm 0,6^a$	5 ± 1^b

1: Promedios $\pm$ límite de confianza al 95%

Nota: Letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas para $\alpha = 0,05$.

DISCUSIÓN

Con respecto al análisis del efecto del tratamiento enzimático sobre el cambio en la viscosidad de la pulpa de pitahaya, mediante el análisis de superficie de respuesta, no pudimos determinar un valor óptimo para predecir una reducción máxima en la viscosidad de la pulpa y, por lo tanto, no logramos obtener una ecuación que permitiera modelar el cambio de viscosidad a partir del cambio en la concentración del preparado enzimático y el tiempo de maceración, dentro del dominio experimental ensayado ($p > 0,05$). Lo anterior, explica por qué no mostramos los gráficos de contorno dado que no determinan superficies que respondan a efectos significativos de los factores en estudio.

Asimismo, al analizar estadísticamente el efecto de los factores, ninguno de ellos resultó estadísticamente significativo sobre el cambio en la viscosidad ($p > 0,05$), lo cual no es el comportamiento esperado ya que, para lograr mejores resultados en términos de reducción de viscosidad, es necesario considerar la necesidad de un efecto sinérgico que involucre tanto la concentración de enzima como el tiempo y el orden de las operaciones durante el proceso (Suzuki, 2020). De forma general, se ha demostrado que, durante un proceso enzimático, al aumentar la concentración de la enzima y el tiempo de maceración en tratamientos donde se involucran reacciones de hidrólisis de polisacáridos, disminuye la viscosidad del fluido (Sharma et al., 2016; Song et al., 2019).

Relacionado con los resultados del comportamiento de la viscosidad de la pulpa de pitahaya posterior al tratamiento enzimático, conocemos que esta contiene otros compuestos como carbohidratos complejos, lípidos y proteínas que no han sido estudiados a profundidad y se desconoce el comportamiento e interacción que podrían tener (Liaotrakoon, 2013; Montoya-Arroyo et al., 2014; Ramírez-Truque et al., 2011; Schweiggert et al., 2009). Por lo tanto, estos compuestos podrían verse afectados por factores como la temperatura y la exposición a la enzima, generando otras reacciones no consideradas dentro del mecanismo de acción esperado de una pectinasa y una celulasa, que también podrían estar afectando la viscosidad de la pulpa, tal como exponemos en este estudio. De forma adicional, se desconocen las cinéticas enzimáticas del preparado usado, por lo tanto, el comportamiento mostrado puede estar asociado a que la enzima procesó rápidamente todo el sustrato disponible fácilmente.

A pesar de que no pudimos atribuir el comportamiento mostrado a la concentración, el tiempo ni a la interacción de ellos, sí logramos probar que el tratamiento enzimático redujo la viscosidad de la pulpa de forma significativa, demostrando la efectividad del tratamiento aplicado, en el dominio experimental estudiado; por lo tanto, aplicando cualquiera de las condiciones ensayadas tuvimos una reducción de viscosidad de entre 150cP y 190cP, aproximadamente. Un cambio de esta magnitud es perceptible desde un punto de vista práctico a nivel de procesamiento industrial, ya que determinamos que una diferencia relevante ocurre a partir de un cambio de 75cP.

Si bien el objetivo del tratamiento enzimático se centra en la mejora en las características reológicas de la pulpa de pitahaya, es claro que otras características deben preservarse, entre ellas el contenido de betalainas, en particular las betacianinas, tanto por las propiedades funcionales que aportan como por tratarse del pigmento responsable del color característico de esta fruta. Así mismo, también consideramos importante los componentes de color instrumental, como una característica apreciada a nivel comercial.

Por lo anterior, con respecto a la evaluación de la concentración de betacianinas, mediante el análisis de superficie de respuesta no logramos determinar un valor óptimo para predecir la combinación de factores que generaran una menor reducción de la concentración de betacianinas en la pulpa de pitahaya ($p > 0,05$); por lo tanto, no logramos obtener una ecuación que permitiera

modelar el cambio en la concentración de betacianinas a partir del cambio en la concentración del preparado enzimático y el tiempo de maceración dentro del dominio experimental ensayado.

Al considerar los factores en estudio estimamos que, al aumentar el tiempo de maceración, mayor es la degradación de las betacianinas. Este comportamiento lo fundamentamos en el efecto del calor asociado con los tratamientos enzimáticos sobre los pigmentos y no en el efecto de la acción enzimática (Herbach et al., 2006c, 2007; Liaotrakoon et al., 2013); por ello, no esperábamos un efecto de la concentración de la enzima, pero sí del tiempo que tardó el tratamiento enzimático, por la aplicación de calor durante esta etapa.

La disminución en la concentración de las betacianinas la explicamos por el cambio que sufren estos compuestos debido a reacciones químicas como la hidrólisis o la deshidrogenación, que generan un proceso de degradación durante el procesamiento, principalmente cuando se involucra calor y exposición a oxígeno. Algunos de los productos de degradación son de color amarillo, por ejemplo, neobetanina, ácido betalámico y ácido isobetalámico, que son compuestos que no absorben a la longitud de onda de 538nm, región donde se ha demostrado que absorben mayormente las betacianinas (Esquivel, 2016; Herbach et al., 2006a, 2006b). Entonces, podemos inferir que existe una degradación de las betacianinas debido al proceso al que sometimos la pulpa de pitahaya, con la exposición de la pulpa durante periodos prolongados a 50°C y la inactivación por corto tiempo a 80°C.

Stintzing et al. (2003) reportaron valores de concentración de betacianinas que oscilan entre 400-480mg/L en jugo de *H. polyrhizus* y Ramírez (2009) cuantificó valores de entre 450-500mg/L de betacianinas en pulpa de *Hylocereus spp.* En el estudio de Esquivel et al. (2007b) los resultados son muy similares, donde la concentración de betalaínas fue de 550 a 717mg/L en un extracto de pulpa de pitahaya de *Hylocereus sp.* En el presente estudio obtuvimos una concentración promedio de betalaínas en la pulpa tratada enzimáticamente de 306 ± 17 mg/L, que es menor a los valores reportados en la literatura; sin embargo, el contenido de estos compuestos depende de la concentración inicial de betacianinas presente en la fruta fresca, lo cual se asocia con el proceso de desarrollo y condiciones del cultivo (Ortiz & Takahashi, 2015). De forma general, concluimos que, el tiempo de maceración produjo una disminución en la concentración de betacianinas de la pulpa de pitahaya; sin embargo, obtuvimos un porcentaje promedio de retención del pigmento del 92%, que es bastante elevado para las condiciones operacionales aplicadas.

Al analizar los resultados de los parámetros de color entre la pulpa fresca y la pulpa con tratamiento enzimático, destacamos la diferencia en el parámetro b^* , que nos indica el cambio hacia la región amarilla. Estos cambios de color los asociamos con la degradación de betacianinas mediante reacciones que dan paso a la generación de compuestos de color amarillo-naranja (Herbach et al., 2004, 2006a, 2006b, 2007). Así mismo, relacionamos este comportamiento de cambio de color a procesos de pardeamiento no enzimático, ya que la pulpa la sometimos a condiciones donde es posible la generación de reacciones de Maillard, generando melanoidinas que son compuestos coloreados de color amarillo-café (Belitz et al., 2009). De forma similar ocurre con el parámetro h° , donde la pulpa fresca presentó un valor cercano a los 360°, que espacialmente representa un ángulo asociado con un tono rojo, mientras la pulpa tratada presentó un promedio que se ubica en la región donde predomina el color rojo- anaranjado; por lo tanto, esto también lo consideramos como otro indicador de la degradación de las betacianinas (Herbach et al., 2006b; 2007).

En general, los autores visualmente apreciamos un tono rojizo en todas las pulpas posterior al tratamiento enzimático, el cual es un color que se percibe diferente al color de una pulpa fresca de *H. polyrhizus*, que se identifica como un tono entre fucsia a morado, coloración que proviene de las betacianinas; sin embargo, esta diferencia no resultó desagradable ni crítica para el producto

final. Además, esta valoración visual de las pulpas concuerda con el resultado estadístico del análisis del color instrumental, pues a simple vista no se notó una diferencia importante en las muestras provenientes de los distintos tratamientos; esto a pesar de los cambios detectados en el contenido de betacianinas debido al tiempo de maceración enzimática, según se reportó en el apartado anterior.

Concluimos que el tratamiento enzimático estudiado permite una disminución en la viscosidad de la pulpa de pitahaya con una afectación razonable en el contenido de betacianinas y en el color del producto. Se recomienda bajo condiciones industriales específicas validar el tratamiento enzimático alrededor del punto central de nuestro diseño (375g/ton del preparado enzimático durante 2,3h de maceración. Consideramos que el tratamiento enzimático tiene una potencial aplicación industrial en la elaboración de una pulpa que puede utilizarse para el desarrollo de diversos productos alimenticios, con menores dificultades tecnológicas que podrían derivarse de la viscosidad de la pulpa fresca.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos el apoyo de la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica que aportó el financiamiento requerido, como parte del presupuesto asignado al Proyecto 520-B9-607: Valorización de la producción de pitahaya producida en Guanacaste, mediante el desarrollo de tecnologías de procesamiento, con el fin de promover el desarrollo de este cultivo en la región. Además, reconocemos la colaboración de la Carrera de Ingeniería de Alimentos de la Universidad de Costa Rica, Sede Guanacaste. Asimismo, agradecemos a COOPEPITAHAYA R. L., en especial a los productores que suministraron la materia prima y a Grupo Trisan por el apoyo y asesoría técnica con respecto a los preparados enzimáticos empleados en el proyecto.

ÉTICA, CONFLICTO DE INTERESES Y DECLARACIÓN DE FINANCIAMIENTO

Declaramos haber cumplido con todos los requisitos éticos y legales pertinentes, tanto durante el estudio como en la preparación de este documento; que no hay conflictos de interés de ningún tipo, y que todas las fuentes financieras se detallan plena y claramente en la sección de agradecimientos. Asimismo, estamos de acuerdo con la versión editada final de esta publicación. El respectivo documento legal firmado se encuentra en los archivos de la revista.

La declaración de contribución de cada autor es la siguiente: A.M.R.: Diseño del estudio recolección, análisis de datos. MBM.: Diseño del estudio, análisis de datos, contribución con bibliografía pertinente y revisión del documento. E.W.G.: Diseño del estudio, análisis de datos y revisión del documento. M.M.B.: contribución con bibliografía pertinente y revisión del documento. Todos los coautores participaron en la redacción y aprobación final del manuscrito.

REFERENCIAS

- The Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (2000). *Official methods of analysis* (17th ed.). Association of Official Analytical Chemistry International.
- The Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (2005). *Official methods of analysis* (18th ed.). Association of Official Analytical Chemistry International.
- Barreto, J. C., Herbach, K., Stintzing, F., & Carle, R. (2012). Postharvest biology and technology of pitahaya (*Hylocereus* spp.). *Postharvest Biology and Technology*, 63(1), 128-135. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2011.06.016>
- Belitz, H.-D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2009). *Food Chemistry* (4th ed.). Springer Berlin Heidelberg.
- Coy-Barrera, E. (2020). Analysis of betalains (betacyanins and betaxanthins). In A. Sanches, S. Fazel, M. Saeedi & S. Mohammad (Eds.). *Recent Advances in Natural Products Analysis* (pp. 593–619). Elsevier
- Dávila, I. (2005). *Jugo clarificado de pitahaya obtenido por microfiltración tangencial*. [Tesis especialista en Tecnología de Alimentos, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua].
- Esquivel, P., & Araya, Y. (2012). Características del fruto de la pitahaya (*Hylocereus* sp.) y su potencial de uso en la industria alimentaria. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 3(1), 113–129. <http://www.rvcta.org>
- Esquivel, P. (2016). Betalains. In R. Carle, & U. Schweiggert (Eds.), *Handbook on Natural Pigments in Food and Beverages: Industrial Applications for Improving Food Color* (pp. 81–99). Elsevier. <https://doi.org/nbmcc>
- Esquivel, P., Stintzing, F., & Carle, R. (2007a). Fruit characteristics during growth and ripening of different *Hylocereus* genotypes. *European Journal of Horticultural Science*, 72(5), 231–238.
- Esquivel, P., Stintzing, F., & Carle, R. (2007b). 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>
- García, M., & Quirós, O. (2010). Análisis del comportamiento de mercado de la pitahaya (*Hylocereus undatus*) en Costa Rica. *Revista Tecnología En Marcha*, 23(2), 14–24.
- Gengatharan, A., Dykes, G. A., & Choo, W. S. (2015). Betalains: Natural plant pigments with potential application in functional foods. *LWT - Food Science and Technology*, 64(2), 645–649. <https://doi.org/gh88h7>
- Herbach, K., Maier, C., Stintzing, F., & Carle, R. (2007). Effects of processing and storage on juice colour and betacyanin stability of purple pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) juice. *European Food Research and Technology*, 224(5), 649–658. <https://doi.org/10.1007/s00217-006-0354-5>
- Herbach, K., Stintzing, F., & Carle, R. (2004). Thermal degradation of betacyanins in juices from purple pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) monitored by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometric analyses. *European Food Research and Technology*, 219(4), 377–385. <https://doi.org/10.1007/s00217-004-0948-8>
- Herbach, K., Stintzing, F., & Carle, R. (2006a). Betalain stability and degradation - Structural and chromatic aspects. *Journal of Food Science*, 71(4), 41–50. <https://doi.org/dftt74>
- Herbach, K., Stintzing, F., & Carle, R. (2006b). Stability and color changes of thermally treated betanin, phyllocactin and hylocerenin solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(2), 390–398. <https://doi.org/cqctff>
- Herbach, K., Rohe, M., Stintzing, F., & Carle, R. (2006c). Structural and chromatic stability of purple pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) betacyanins as affected by the juice matrix and selected additives. *Food Research International*, 39(6), 667–677. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.01.004>

- Le Bellec, F., & Vaillant, F. (2011). 12- Pitahaya (pitaya) (*Hylocereus* spp.). In E. M. Yahia (Ed.), *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits. Volume 4: Mangosteen to white sapote* (pp. 247-273). Woodhead Publishing Limited. <https://doi.org/10.1533/9780857092618.247>
- Liaotrakoon, W. (2013). *Characterization of dragon fruit (Hylocereus spp.) components with valorization potential*. [Tesis de doctorado, Ghent University]. <https://tinyurl.com/253ur9su>
- 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/fh8vkt>
- Jeronimo, M., Costa, J., & Carvalho, M. (2017). Nutritional pharmacological and toxicological characteristics of pitaya (*Hylocereus undatus*): A review of the literature. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 11(27), 300-304. <https://doi.org/10.5897/AJPP2016.4582>
- Jiang, H., Zhang, W., Li, X., Shu, C., Jiang, W., & Cao, J. (2021). Nutrition, phytochemical profile, bioactivities and applications in food industry of pitaya (*Hylocereus* spp.) peels: A comprehensive review. *Trends in Food Science and Technology*, 116(6), 199–217. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.06.040>
- Joshi, M., & Prabhakar, B. (2020). Phytoconstituents and pharmacotherapeutic benefits of pitaya: A wonder fruit. *Journal of Food Biochemistry*, 44(7), e13260. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13260>
- Magalhães, D., Mendes da Silva, D., Ramos, J., Salles, L., Pasqual, M., Barros, E., Galvão, E., & Tadeu de Melo, E. (2019). Changes in the physical and physico-chemical characteristics of red-pulp dragon fruit during its development. *Scientia Horticulturae*, 253(3), 180–186. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.04.050>
- Montoya-Arroyo, A., Schweiggert, R. M., Pineda-Castro, M. L., Sramek, M., Kohlus, R., Carle, R., & Esquivel, P. (2014). Characterization of cell wall polysaccharides of purple pitaya (*Hylocereus* sp.) pericarp. *Food Hydrocolloids*, 35, 557–564. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.07.010>
- Nielsen, S. (2017). *Food Analysis* (Fifth Edition). Springer Cham. <https://tinyurl.com/2c3n5e83>
- Nur'Aliaa, A. R., Siti Mazlina, M. K., Taip, F. S., & Liew Abdullah, A. G. (2010). Response surface optimization for clarification of white pitaya juice using a commercial enzyme. *Journal of Food Process Engineering*, 33(2), 333–347. <https://doi.org/fp9dju>
- Ortiz, T., & Takahashi, L. (2015). Physical and chemical characteristics of pitaya fruits at physiological maturity. *Genetics and Molecular Research*, 14(4), 14422–14439. <https://doi.org/10.4238/2015.November.18.5>
- Phuong, N., & Tuan, Q. (2016). Application of hydrolytic enzymes for improvement of red dragon fruit juice processing. *Asia Pacific Journal of Sustainable Agriculture Food and Energy (APISAFE)*, 4(1), 1–4.
- Ramírez, C. (2009). *Efecto del procesamiento sobre la estabilidad de una pulpa pasteurizada de pitaya (Hylocereus sp.) durante el almacenamiento*. [Tesis de licenciatura, Universidad de Costa Rica].
- Ramírez-Truque, C., Esquivel, P., & Carle, R. (2011). Neutral sugar profile of cell wall polysaccharides of pitaya (*Hylocereus* sp.) fruits. *Carbohydrate Polymers*, 83(3), 1134–1138. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.09.04>
- Schweiggert, R., Villalobos-Gutierrez, M., Esquivel, P., & Carle, R. (2009). Development and optimization of low temperature enzyme-assisted liquefaction for the production of colouring foodstuff from purple pitaya (*Hylocereus* sp. [Weber] Britton & Rose). *European Food Research and Technology*, 230(2), 269–280. <https://doi.org/10.1007/s00217-009-1167-0>
- Sharma, H., Patel, H., & Sugandha. (2016). Enzymatic added extraction and clarification of fruit juices—A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1549–7852. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.977434>
- Song, L., Pei, H., & Zhang, Z. (2019). Research Progress of Pectinase. *Medical Plant*, 10(3), 11–15.

- Stintzing, F., Schieber, A., & Carle, R. (2003). Evaluation of colour properties and chemical quality parameters of cactus juices. *European Food Research and Technology*, 216(4), 303–311.
- Suzuki, H. (2020). *How enzymes Work: From structure to function* (2nd ed.). CRC Press.
- Teixeira, D. V., Baião, D., Silva, F., Alves, G., Perrone, D., Del Aguila, E. M., & Flosi Paschoalin, V. M. (2019). Betanin, a natural food additive: Stability, bioavailability, antioxidant and preservative ability assessments. *Molecules*, 24(3), 458. <https://doi.org/gnxhfj>
- Thermo Fisher Scientific. (2020). *HAAKE Viscotester C: Instruction Manual*.
- Ulloa, E. (2017). *Oportunidades de comercialización de productos agrícolas incipientes*. <https://tinyurl.com/26me7om5>
- Verona-Ruiz, A., Urcia-Cerna, J., & Paucar-Menacho, L. (2020). Pitahaya (*Hylocereus* spp.): Culture, physicochemical characteristics, nutritional composition, and bioactive compounds. *Scientia Agropecuaria*, 11(3), 439–453. <https://doi.org/gpqjks>
- 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(6), 1–16. <https://doi.org/nbmb>