

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS



**Digestibilidad in vitro de nanopartículas de nopal (*Opuntia Ficus-indica*)
obtenidas mediante molienda ultrafina.**

POR

MONTSERRAT BRAVO SALOMON

T E S I S

Presentada como requisito parcial para obtener el título profesional de

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Diciembre de 2019

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos

**Digestibilidad in vitro de nanopartículas de nopal (*Opuntia Ficus-indica*)
obtenidas mediante molienda ultrafina.**

T E S I S

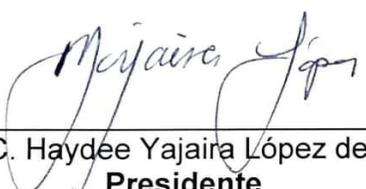
Presentada por

MONTSERRAT BRAVO SALOMON

y que somete a consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para
obtener el título profesional de

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

A P R O B A D A



M.C. Haydee Yajaira López de la Peña
Presidente



Dra. María Hernández González
Vocal



M.P. Francisco Hernández Centeno
Vocal



Dr. José Dueñez Alanís
Coordinador de la División de Ciencia Animal



Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Diciembre de 2019

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL**

Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos

**Digestibilidad in vitro de nanopartículas de nopal (*Opuntia Ficus-indica*)
obtenidas mediante molienda ultrafinas.**

T E S I S

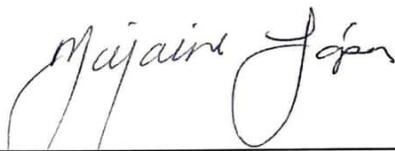
Presentada por

MONTSERRAT BRAVO SALOMON

y que somete a consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para
obtener el título profesional de

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

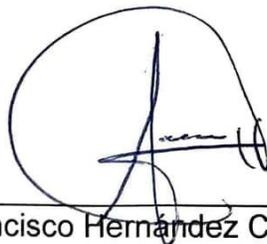
Fue dirigida por el siguiente comité:



M.C. Haydee Yajaira López De la Peña
Asesor principal



Dra. María Hernández González
Co-asesor



M.P. Francisco Hernández Centeno
Co-asesor



Dra. Claudia M. López Badillo
Co-asesor externo

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Diciembre de 2019

DEDICATORIAS

A Dios primero que a nadie porque siempre está bendiciendo mi vida y guiándome por el camino que tiene planeado para mí y también porque en el cielo tengo 3 angelitos que me cuidan siempre que son mis abuelitos Delfina Fentanes, Genaro Salomón y María Antonia los cuales estarían muy felices por ver este logro llegar a su fin.

A mis padres Cecilia Salomón Fentanes y Hermenegildo Bravo Peña los cuales doy gracias a dios por tenerlos a mi lado y nunca me cansare de agradecerles todo lo que hacen por mí y porque siempre me motivan a ponerme retos yo sola y creer en mi a pesar de todo, son mi fuerza y motor para salir adelante siempre y porque no hay distancia que nos separe nunca.

Este trabajo está dedicado a ustedes en especial, es mi trofeo por culminar una vez más mis estudios y porque no lo hubiese podido lograr sin ustedes motivándome día con día gracias en verdad por educarme como lo han hecho hasta ahora para poder llegar hacer la profesionista que un día quise ser.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro y al laboratorio del departamento de Alimentos por dejarme trabajar y prestarme las instalaciones, equipos y material de trabajo. Gracias a todos los profesores que me dieron catedra y los que me brindaron su conocimiento.

Muchas gracias a mi asesor M.C. Haydee López de la Peña por brindarme la asesoría y consejos para llevar a cabo este trabajo y por la gran estima que le tengo, una maestra que aporta su conocimiento y experiencia a los alumnos de la carrera de Ingeniero en Ciencia y Tecnología de Alimentos.

A la Facultad Ciencias Químicas en la Universidad Autónoma de Coahuila en especial al Departamento de Análisis Instrumental y al Departamento de Cerámicos a cargo la Dra. Claudia López por darme acceso a sus instalaciones y darme oportunidad de usar los equipos con los que cuentan.

También quiero agradecer al Centro de Investigación de Química Aplicada por su valiosa colaboración para la realización de diversos análisis.

Gracias infinitas a mis amigas Lorena Elizabeth Chávez Romero, María Fernanda Valdés Días, Ana Ríos, Mónica Garza, Leidi Cruz y Consuelo Guillermo con las cuales conviví todos estos años en la carrera y que ahora no las veo como amigas sino como hermanas porque vivimos tantas cosas juntas risas, enojos, tristezas etc.. Que todos esos momentos ahora son recuerdos que nos quedaremos todas y nos sentiremos satisfechas porque como juntas llegamos a la Universidad juntas nos graduaremos y esa es la mejor satisfacción de todas.

Muchas gracias a todos

CONTENIDO

DEDICATORIAS	3
AGRADECIMIENTOS	5
CONTENIDO	6
INDICE DE FIGURAS	8
INDICE DE TABLAS	9
RESÚMEN	10
1. INTRODUCCIÓN	11
2. JUSTIFICACIÓN	13
3. HIPÓTESIS.....	14
4. OBJETIVOS	14
4.1 Objetivos particulares	14
5. REVISIÓN DE LITERATURA.....	15
5.1 Antecedentes.....	15
5.1.1 Origen y distribución de los nopales.....	16
5.1.2 propiedades químicas del nopal.....	16
5.1.3 Los nopales como recurso natural.....	17
5.2 Taxonomía.....	18
5.2.1 composición química de las diferentes partes de la planta en diversos estados fisiológicos.....	20
5.2.2 Frutos.....	21
5.2.3 Cladodios.....	25
5.2.4 Flores.....	26
5.3 Valor nutritivo y propiedades funcionales de cladodios.....	26
5.3.1 Valor nutritivo de cladodios.....	27
5.3.2 Propiedades funcionales de cladodios.....	28
5.3.3 Aprovechamiento de cladodios.....	29
5.4 Harina de nopal.....	31
5.4.1 Materiales y procedimientos para harina de nopal.....	31
5.4.2 Proceso de harina de nopal.....	32
5.5 Tipos de moliendas.....	34
5.5.1 El molino tipo Attritor horizontal.....	34
5.5.2 Molino vibratorio.....	34

5.5.3 Molino Planetario.....	35
5.6 Tamaño de partículas en harinas.....	35
5.6.1 control de calidad del tamaño de partícula de harina.....	36
5.7 Digestibilidad.....	36
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	38
6.1 Adquisición de harina de nopal (<i>Opuntia Ficus Indica</i>).....	38
6.1.1 Análisis Bromatológico.....	38
6.3 Molienda en molino Planetario.....	39
6.4 Determinación de tamaño de partícula.....	39
6.5 Difracción de rayos X (DRX).....	39
6.6 Fluorescencia de rayos X (FRX).....	40
6.7 Análisis de espectro infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR).....	40
6.8 Digestibilidad.....	40
6.8.1 Preparación de curva de harina de nopal.....	40
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	43
7.1 Adquisición de harina de nopal (<i>Opuntia Ficus Indica</i>).....	43
7.1.1 Análisis Bromatológico.....	43
7.2 Molienda en molino planetario.....	44
7.3 Determinación de tamaño de partícula.....	45
7.4 Análisis de los patrones de difracción de rayos X (DRX).....	46
7.5 Análisis de fluorescencia de rayos X (FRX).....	48
7.6 Análisis de espectro infrarrojo con transformada de Fourier FTIR.....	49
7.7 Análisis de digestibilidad: Actividad de la α -Amilasa.....	50
8. CONCLUSIONES.....	53
8. LITERATURA CITADA.....	55
9. ANEXOS.....	59

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Extension que ha alcanzado el nopal en todo el mundo.....	16
FIGURA 2. Diversos tipos de plantas de noaples Chile, 2000	20
FIGURA 3. Tunas de diversos colores Chile, 1998.....	24
FIGURA 4. a) molino tipo attritor horizontal, b) molino vibratorio y c) molino planetario.	35
FIGURA 5. Diagrama de flujo.....	38
FIGURA 6. Harina comercial.....	43
FIGURA 7. Muestras tratadas con diferentes tiempos de molienda.....	45
FIGURA 8. Tamaño de particula contra tiempo de molienda.....	46
FIGURA 9. Patrones de difraccion.....	47
FIGURA 10. Espectros de FTIR para los diferentes tiempos de molienda.....	50
FIGURA 11. Análisis de medias de la actividad de la α -amilasa..... ¡Error! Marcador no definido.	
FIGURA 12. Pruebas de digestibilidad.....	52
FIGURA 13. Curva de calibracion de glucosa.....	66

INDICE DE TABLAS

TABLA 1. Cambios físicos y de la composición de los frutos de <i>Opuntia amyclaea</i> durante su maduración.....	21
TABLA 2. Composición química de la pulpa de tuna (porcentaje).....	23
TABLA 3. Composición mineral de la pulpa de tuna (mg/100 g).	23
TABLA 4. Composición química de pulpas de tuna (porcentaje de la parte comestible).	24
TABLA 5. Composición de pulpas de tuna (porcentaje de la parte comestible).	25
TABLA 6. Características promedio de 11 colectas de <i>Opuntia xocconostle</i>	25
TABLA 7. Composición química de cladodios de distintas edades (porcentaje materia seca).	25
TABLA 8. Algunos productos alimenticios, subproductos y aditivos obtenidos de las tunas y los cladodios.	30
TABLA 9. Diferentes tipos de tamiz.	33
TABLA 10. Preparación de muestras con solución madre.	41
TABLA 11. Cantidad de solución de α -Amilasa para cada una de las muestras.	41
TABLA 12. Cantidad de solución de α -Amilasa agregada a cada muestra.	41
TABLA 13. Análisis de fluorescencia a rayos X en diferentes tiempos de molienda.	49
TABLA 14. Preparación de muestras para curva estándar de glucosa. ¡Error! Marcador no definido.	

RESUMEN

El nopal tiene excelentes propiedades debido a que contiene cantidades adecuadas de proteínas, fibra y micronutrientes. Las especies de nopal se utilizan como medicinas locales para enfermedades crónicas y como fuentes de alimentos principalmente porque poseen propiedades nutricionales y actividad biológica. Los productos de nopal tienen valor comercial en la producción de jugos, bebidas alcohólicas, mermeladas y edulcorantes líquidos naturales. También se utilizan en agroquímicos, cosméticos, industrias químicas y tratamientos de aguas residuales. La adición de compuestos activos para mejorar las propiedades funcionales de los alimentos es una práctica bastante común.

En este trabajo se obtuvieron nanopartículas de nopal (*Opuntia Ficus-indica*) después de someter la harina de nopal comercial a un proceso de molienda ultrafina, en un molino planetario, a seis diferentes tiempos de molienda. Las nanopartículas de nopal se analizaron química y físicamente mediante diferentes técnicas instrumentales, tales como DRX, FTIR, FRX y NTA. Se constató que fue posible obtener nanopartículas de nopal con tamaños promedio de 107 nm, así como que la composición de estas no cambió con los diferentes tiempos de molienda. Además, se cuantificaron tanto cualitativamente como cuantitativamente las fases presentes en las muestras, las cuales fueron oxalatos de calcio, carbonatos de calcio, celulosa, entre otros compuestos. Adicionalmente se comprobó que el proceso de molienda no originó una contaminación de zirconia importante en las muestras, esto debido al desgaste que pudiera tener el molino planetario durante los ciclos de molienda. Por último, con las pruebas de digestibilidad se encontró que entre más pequeño es el tamaño de partícula la digestibilidad aumenta.

Los resultados de este estudio sugieren que el grado de digestión de las nanopartículas de nopal puede controlarse y predecirse en cierta medida en función del tamaño de partícula, tanto para la nutrición animal como humana.

Palabras clave: Nopal, nanopartículas, digestibilidad, FTIR, α -Amilasa y molienda.

1. INTRODUCCIÓN

Los nopales son originarios de América tropical y subtropical y hoy día se encuentran en una gran variedad de condiciones agroclimáticas, en forma silvestre o cultivada, en todo el continente americano. Además, se han difundido a África, Asia, Europa y Oceanía donde también se cultivan o se encuentran en forma silvestre (Aruwa, Amoo, & Kudanga, 2018).

Las plantas del genero *Opuntia* son nativas de varios ambientes, desde zonas áridas al nivel del mar hasta territorios de gran altura como los Andes del Perú; desde regiones tropicales de México donde las temperaturas están siempre por sobre los 5°C. Los nopales se encuentran distribuidos en numerosos países de todos los continentes y se conocen desde tiempos muy antiguos una diversidad de usos y propiedades. En razón de la escasez de otros alimentos, muchos pueblos desarrollaron métodos para conservar las frutas; por ejemplo, con los nopales hacían miel que podían guardar definitivamente sin descomponerse y también elaboraban melcochas, quesos de tuna y tunas pasas. Muchos de estos modos de consumo persisten hasta hoy; no obstante, el consumo de la fruta fresca y de los nopalitos, es el más extendido y popular (Servicios & Fao, 2006).

La harina de nopal se considera un alimento de interés nutricional por ser fuente de compuestos beneficiosos para la salud. Investigaciones realizadas demuestran que el contenido de fibra alimentaria es de 43%, de la cual 28,45% es insoluble y 14,54% es soluble; entre los minerales se destaca el calcio y potasio mientras que el contenido en sodio es bajo. La harina de nopal representa un ingrediente no tradicional que permite incorporar fibra alimentaria en productos alimenticios ((Castillo, Estrada, Margalef, & Tóffoli, 2013).

El bajo consumo de fibra en la dieta ha sido asociado con una amplia variedad de enfermedades, tales como, constipación, cáncer de colon y diabetes, entre otras. Una amplia variedad de fuentes de fibra han sido utilizadas en alimentos para proveer más fibra, mejorar la textura, el color, el aroma y lograr una reducción de la energía en el producto final (Bejuma, Carabobo, Naguanagua, & Carabobo, 2009).

La harina de cladodios de cactus es fuente importante de fibra y calcio y recientemente tiene aplicaciones en la preparación de sopas de verduras, galletas, pastas, cremas y postres tipo flan o bien en la de fibras dietéticas poleimizadas. Esta última aplicación resulta importante, en virtud de que el consumo de fibras de tipo soluble, representa una mejoría significativa de los procesos digestivos con problemas de estreñimiento y los cactus son fuente importante de este tipo de fibras. En la formulación de postres tipo flanes, se determinó que la utilización de cantidades de harina de cactus mayores de 16% afecta desfavorablemente la textura. En panquecitos, estudios se han centrado en el uso de polvos de cáscara de naranja para mejorar el aroma y el sabor, en la reducción de calorías empleando edulcorantes y no se han realizado estudios sustituyendo de manera parcial la harina de trigo por harina de cactus en este tipo de postres (Ejecutiva et al., n.d.).

La evaluación de la digestibilidad supone la determinación de, qué cantidad de un determinado nutriente o sustancia alimenticia desaparece del tracto digestivo o dicho de otra forma, que cantidad de material no se degrada ni se absorbe mientras pasa a través del ser humano. Este es un aspecto importante en la utilización de los nutrientes, ya que los residuos no digeridos y las excreciones fecales asociadas con la digestión son la única pérdida de mayor relevancia en la utilización de los alimentos, llegando a ser cercano al 40% (Tobal, 1986).

2. JUSTIFICACIÓN

El nopal representa un cultivo alternativo en zonas donde hay deficiencia de agua, constituyendo un importante recurso natural; cuyo aprovechamiento contribuye al desarrollo de las mencionadas zonas, tanto en sus actividades económicas como en el mejoramiento de la seguridad alimentaria de las poblaciones.

La utilización del nopal fresco actualmente se ve condicionada por su corta vida útil y su empleo se limita a la época de producción del cultivo. Una de las posibilidades de uso es la deshidratación del cultivo, que resulta tecnológicamente factible, ya que permite obtener harina de buena calidad nutricional y sensorial, para su empleo en la formulación de alimentos.

La harina de nopal o polvo de nopal tiene también aplicación en la industria panificadora en la preparación de galletas, panes, bizcochos, pastas, cremas y postres. Su aporte en fibras dietéticas resulta importante, en virtud de que el consumo de fibras de tipo soluble, representa una mejoría significativa de los procesos digestivos, constipación, alimentos dietéticos demandados por los consumidores.

La finalidad de este trabajo de investigación es obtener un análisis in vitro de la digestibilidad de nanopartículas de nopal (*Opuntia Ficus-indica*) obtenidas por molienda ultrafina, evaluando la disminución del tamaño de partícula así como su relación con la digestibilidad de las mismas.

3. HIPÓTESIS

Las nanopartículas de nopal (*Opuntia ficus-indica*) obtenidas mediante molienda ultrafina presentan una mayor actividad de la enzima α -Amylase lo que se traduciría en una mayor digestibilidad.

4. OBJETIVOS

Análisis *in vitro* de la digestibilidad de nanopartículas de nopal (*Opuntia ficus-indica*) obtenidas mediante molienda ultrafina.

4.1 Objetivos particulares.

- Obtener nanopartículas de nopal (*Opuntia ficus-indica*) mediante molienda ultrafina.
- Caracterizar por DRX, FTIR, FRX y NTA las nanopartículas de nopal (*Opuntia ficus-indica*) con el fin de evaluar sus propiedades físicas y químicas.
- Evaluar la digestibilidad *in vitro* de las nanopartículas de nopal (*Opuntia ficus-indica*).

5. REVISIÓN DE LITERATURA

5.1 Antecedentes.

El interés del ser humano por los nopales data de miles de años. Su origen e historia están íntimamente relacionados con las antiguas civilizaciones mesoamericanas, en particular con la cultura azteca. Existen evidencias arqueológicas que permiten afirmar que fueron las poblaciones indígenas asentadas en las zonas semiáridas de Mesoamérica las que iniciaron su cultivo de modo formal (Servicios & Fao, 2006).

Es muy probable que ya en los muestrarios de plantas y animales llevados a España por Cristóbal Colón se incluyeran nopales y otras cactáceas como muestra de la exótica flora del nuevo mundo. Cuando Hernán Cortés llegó al Valle de México en 1519, no pudo menos que asombrarse ante los *nopalli* (termino náhuatl que significa nopal) y las tunas (nochtli), sus atractivos y deliciosos frutos. (Aruwa et al., 2018).

Los antiguos relatos hacen mención a la gran variedad de nopales que se encontraban disponibles así como sus usos. Detallan además, la presencia de un insecto que se alimentaba de las pencas de nopal y que produce uno de los hasta el día de hoy más preciados pigmentos colorantes: la grana o cochinilla del carmín, secreto bien guardado por años por los colonizadores a quienes les reportó grandes ganancias (Castillo et al., 2013).

Las propiedades medicinales del nopal también se hicieron notar desde un principio, atribuyéndosele cualidades diversas como anti-inflamatoria, diuréticas y antiespasmódico, entre otras. Los nopales están ligados de modo particular a la historia de México y Mesoamérica, su centro de origen genético; por ejemplo, en el escudo de México figura un águila posada sobre un nopal, un símbolo que ha llegado hasta nuestros días del jeroglífico de la Gran Tenochtitlan y significa *sitio del nopal que crece sobre la piedra*. Esta era la ciudad de los sacrificios de los náhuatl, capital del Imperio azteca, hoy ciudad de México, para los que tuvo especial relevancia en la vida económica, social y religiosa (Gastronomía, 2016).

5.1.1 Origen y distribución de los nopales.

El nopal es una cactácea endémica del Continente Americano que se desarrolló en regiones áridas y semiáridas de nuestro país. Existen 258 especies reconocidas, 100 de las cuales se encuentran en México, que cuenta con una superficie aproximada de 10,000 Ha de plantaciones especializadas en Nopal para consumo humano. (Cicata et al., 2013) Los nopales son originarios de América tropical y subtropical y hoy día se encuentran en una gran variedad de condiciones agroclimáticas, en forma silvestre o cultivada, en todo el continente americano. Además, se han difundido a África, Asia, Europa y Oceanía donde también se cultivan o se encuentran en forma silvestre. En la Figura 1 se muestra la diversificación del nopal en otros continentes (Cicata et al., 2013).



FIGURA 1. Extensión que ha alcanzado el nopal en todo el mundo.

5.1.2 Propiedades químicas del nopal.

La calidad nutritiva del nopal verdura está relacionada con su composición mineral, la cual es variable debido a varios factores. Zhao y Shewry plantean tres estrategias para aumentar la cantidad de elementos minerales en las partes comestibles de las plantas: el mejoramiento genético convencional, la biotecnología y el manejo agronómico. En un estudio realizado en *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill, Zuñiga-Tarango encontraron que aplicaciones de 100 t ha de estiércol de bovino ocasionaron en los cladodios tiernos de consumo una mayor concentración de Mn, Cu, Zn y Fe (39.6, 18.9, 44.8 y 179.7 ppm, respectivamente), de P (0.56%) y K (6.58%), y en el suelo un incremento en el contenido mineral y de materia orgánica (Santiago-Lorenzo et al., 2016).

5.1.3 Los nopales como recurso natural.

Las plantas del genero *Opuntia* son nativas de varios ambientes, desde zonas áridas al nivel del mar hasta territorios de gran altura como los Andes del Perú; desde regiones tropicales de México donde las temperaturas están siempre por sobre los 5°C a áreas de Canadá que en el invierno llegan a – 40°C. Por esta razón, estas especies pueden ser un recurso genético de interés para zonas ecológicas muy diversas (Cicata et al., 2013). Uno de sus mayores atractivos es su anatomía y morfología adaptada a condiciones de fuerte estrés ambiental, por lo que son una alternativa de cultivo para regiones donde difícilmente crecen otras especies (Roma, 2018).

Las características de las plantas que las hacen adaptables al medio árido tienen relación con la conformación de varios de sus órganos. Sus raíces superficiales y extendidas captan el agua de las escasas lluvias que caen en esos ambientes. Las lluvias aisladas, por otra parte, inducen la formación de raíces secundarias que aumentan la superficie de contacto con el suelo lo cual facilita la absorción de agua y nutrientes. Cuando se inicia la sequía, las raíces comienzan a contraerse de manera radial contribuyendo a disminuir la pérdida de agua (Roma, 2018).

Los tallos son suculentos y articulados, botánicamente llamados cladodios y vulgarmente pencas. En ellos se realiza la fotosíntesis, ya que los tallos modificados reemplazan a las hojas en esta función; se encuentran protegidos por una cutícula gruesa, que en ocasiones está cubierta de cera o pelos que disminuyen la pérdida de agua. Estos tallos presentan, además, gran capacidad para almacenar agua, ya que poseen abundante parénquima; en este tejido se almacenan considerables cantidades de agua lo que permite a las plantas soportar largos periodos de sequía. Cabe destacar el papel de los mucilagos- hidrocoloides presentes en este tejido – que tienen la capacidad de retener el agua. Los cladodios poseen además espinas. Presentan pocos estomas por unidad de superficie con la particularidad de permanecer cerrados durante el día y abiertos en la noche; esto evita la pérdida de agua por transpiración durante el día y permite durante las horas nocturnas la entrada de anhídrido carbónico (CO₂), materia prima indispensable para la fotosíntesis (Santiago-Lorenzo et al., 2016).

Estas plantas poseen también gran resistencia, sobre todo, a altas temperaturas, aunque algunas especies también resisten hasta $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$. Estas cactáceas han jugado un papel ecológico decisivo al frenar la degradación de suelos deforestados. Si se considera la porción de superficie terrestre árida o semiárida apta para cultivar estas especies que requieren poco o ningún aporte de agua, puede comprenderse su importancia agronómica (Ejecutiva et al., n.d.).

En Etiopía, los nopales son considerados como “el puente de la vida”, ya que tanto los tallos que acumulan gran cantidad de agua, como los frutos, sirven de alimento para que el ganado subsista en épocas de sequía y los pastores cuenten con alimento, contribuyendo así de manera importante, a la supervivencia de ambos. Si en estos países se difundiera el consumo de los nopales con las variadas formas que se acostumbra por ejemplo en México, sería posible disminuir la desnutrición y mejorar la calidad de vida de sus habitantes (Servicios & Fao, 2006).

5.2 Taxonomía

Los nopales son plantas arbustivas, rastreras o erectas que pueden alcanzar 3,5 a 5 m de altura. El sistema radical es muy extenso, densamente ramificado, rico en raíces finas absorbentes y superficiales en zonas áridas de escasa pluviometría. La longitud de las raíces está en relación con las condiciones hídricas y con el manejo cultural, especialmente el riego y la fertilización (Roma, 2018).

Los tallos suculentos y articulados o cladodios, comúnmente llamados pencas, presentan forma de raqueta ovoide o alongada alcanzando hasta 60-70 cm de longitud, dependiendo del agua y de los nutrientes disponibles. Cuando miden 10-12 cm son tiernos y se pueden consumir como verdura. El aumento del área del cladodio dura alrededor de 90 días. Sobre ambas caras del cladodio se presentan las yemas, llamadas areolas, que tienen la capacidad de desarrollar nuevos cladodios, flores y raíces aéreas según las condiciones ambientales (Instituto de Innovación en Biotecnología e Industria (IIBI), 2019).

Las aréolas presentan en su cavidad espinas, que generalmente son de dos tipos: algunas pequeñas, agrupadas en gran número, en México comúnmente se llaman aguacates y las grandes que son, según algunos botánicos, hojas modificadas. Cuando el hombre entra en contacto con la planta las espinas se pueden desprender y penetrar en la piel, constituyendo un serio inconveniente tanto para la cosecha de los frutos como para el procesamiento y consumo de los mismos (Santiago-Lorenzo et al., 2016).

Los tallos se lignifican con el tiempo y pueden llegar a transformarse en verdaderos tallos leñosos, agrietados, de color ocre blancuzco a grisáceo. Las flores son sésiles, hermafroditas y solitarias, se desarrollan normalmente en el borde superior de las pencas. Su color es variable: hay rojas, amarillas, blancas, entre otros colores. En la mayor parte del mundo la planta florece una vez al año; sin embargo, en Chile bajo ciertas condiciones ambientales y con suministro de agua en verano, se presenta una segunda floración en marzo, que da origen a la llamada fruta “inverniza”(Roma, 2018).

El fruto es una falsa baya con ovario ínfero simple y carnoso. La forma y tamaño de los frutos es variable. Chessa y Nieddu y Ochoa describen en detalle los tipos de fruto; los hay ovoides, redondos, elípticos y oblongos con los extremos aplanados, cóncavos o convexos. Los colores son diversos: hay frutos rojos, anaranjados, púrpuras, amarillos y verdes, con pulpas también de los mismos colores. La epidermis de los frutos es similar a la del cladodio, incluso con aréolas y abundantes gloquidios y espinas, que a diferencia del cladodio, persisten aún después de la sobre madurez del fruto. La cáscara de los frutos difiere mucho en grosor, siendo también variable la cantidad de pulpa. Esta última presenta numerosas semillas, que se consumen junto con la pulpa. Hay frutos que presentan semillas abortadas, lo que aumenta la proporción de pulpa comestible. Debido a que existen preferencias en algunos mercados por frutos con poca semillas o sin semillas o sin semillas, el mejoramiento genético está orientado hacia la búsqueda y multiplicación de variedades que presenten esta característica un ejemplo en la Figura 2 (Servicios & Fao, 2006).



FIGURA 2. Diversos tipos de plantas de nopales Chile, 2000.

5.2.1 composición química de las diferentes partes de la planta en diversos estados fisiológicos.

Desde el punto de vista de la industrialización es primordial tener un conocimiento cabal de la composición química de las diferentes partes de la planta. Este conocimiento es indispensable para tener éxito tanto en la elección de las tecnologías de procesamiento más adecuadas que se pueden aplicar como en las condiciones de aplicación de las mismas, a fin de obtener productos inocuos, nutritivos y de alta calidad. Por lo tanto, las partes de la planta cuyas características interesa conocer mejor por sus amplias posibilidades de utilización son los frutos y los cladodios. Las flores se consideran también, al igual que los cladodios o nopalitos, una verdura y se pueden consumir como tales. La evolución de la composición de algunos parámetros hasta la madurez (pH, sólidos solubles, fibra) deberá ser tomada en cuenta dependiendo del proceso a que se someterá la fruta o los cladodios, y más directamente al producto a que se quiera destinar (Roma, 2018).

5.2.2 Frutos

La composición de los frutos varía con la madurez. Es necesario tener en cuenta que son frutos «no climatéricos» (no maduran una vez cosechados), por lo que es importante cosecharlos en el punto de madurez óptima de consumo, donde está mejor expresado su potencial. Esta madurez óptima de consumo está reflejada en los valores de algunos parámetros específicos. Inglese (1999) y Cantwell (1999), señalan que se han propuesto diferentes parámetros para definir la mejor época de cosecha de la fruta: tamaño y llenado del fruto; cambios en el color de la cáscara; firmeza del fruto; profundidad de la cavidad floral o receptáculo; contenido de sólidos solubles totales (SST) y caída de los gloquidios como se muestra en la Tabla 1 (Servicios & Fao, 2006).

Los sólidos solubles totales aumentan rápidamente cuando la pulpa comienza a crecer (40-50 días después del cuajado de la flor); cuando se inicia el cambio de color de la cáscara, el contenido de esos sólidos es de 85 a 90 por ciento del que alcanza un fruto maduro. Cuando el color de la cáscara ha llegado a la mitad de lo que alcanzaría en la madurez completa, el contenido de sólidos solubles totales llega a valores de 12-15 por ciento, dependiendo del cultivar; es en esta etapa cuando se alcanza la mejor calidad de fruta para consumo en fresco o para almacenamiento. Los sólidos solubles totales aumentan ligeramente en frutos completamente maduros, pero en esta etapa ya no son adecuados para almacenamiento y están muy blandos para el manejo (Louati et al., 2018).

TABLA 1. Cambios físicos y de la composición de los frutos de *Opuntia amyoclaea* durante su maduración.

Estado de maduración	Peso (g)	Diámetro min-max (cm)	Profundidad receptáculo floral (mm)	Pulpa (%)	Firmeza (kg/cm)	SST (%)	Acidez (%)	ph	Vitamina C (mg/100g)
Inmaduro	86	42-44	7,2	44	4,6	7,5	0,08	5,2	12
Verde sazón	102	47-49	3,5	57	3,7	8,8	0,04	6,1	18
Intermedio	105	49-53	1,9	63	2,7	10,1	0,03	6,2	18
Maduro	112	50-54	1,4	65	2,4	11,5	0,02	6,3	26
Sobremaduro	108	49-53	1,0	75	2,2	12,5	0,02	6,4	28

Comúnmente consumidas en México: *Opuntia ficus-indica*, *O. sp.* y *O. streptacantha*, de madurez temprana, media y tardía, respectivamente. El momento de la cosecha (madurez de consumo) es determinado en el campo por los mismos agricultores en base al color y las características de la textura de la fruta. El pH evoluciona al progresar la madurez; en esto se *distingue* *Opuntia streptacantha* de *O. ficus-indica* y de *O. sp.*. La primera presenta bajos valores de pH (cercaos a 3,0), cuando la madurez es incipiente, aumentado durante su desarrollo hasta valores cercanos a 6,0. En cambio *O. ficus-indica* y *O. sp.* no manifiestan cambios en el pH al avanzar la madurez, permaneciendo prácticamente constantes en valores cercanos a 6,0. Los sólidos solubles totales aumentan en las tres especies al progresar la madurez (Aruwa et al., 2018).

Respecto a la composición química de las partes comestibles de los frutos, tradicionalmente los datos han ido formando parte de las tablas de composición química de alimentos que recogen valores a veces puntuales de una zona o país; sin embargo, las especies vegetales varían su composición de acuerdo a muchos factores, entre ellos la zona de cultivo. En lo que respecta a los frutos, la composición química se ve influida por la madurez, por lo que es interesante conocer las características propias de especies adaptadas a zonas ecológicas específicas antes de abordar las posibles alternativas de industrialización (Marin-Bustamante et al., 2017).

La parte comestible de la tuna está constituida por la pulpa y las semillas, teniendo en cuenta que el rendimiento en pulpa es un factor importante para la industrialización; estudios realizados por varios autores indican que el porcentaje de cáscara es variable de acuerdo a las zonas de cultivo. Es así como Sepúlveda y Sáenz (1990) en *Opuntia ficus-indica* cultivada en Chile, encontraron que el porcentaje de cáscara era de 50,5 por ciento y 49,6 por ciento de parte comestible (pulpa y semilla), de la cual 78,9 por ciento correspondió a pulpa y 20,1 por ciento a semillas (Aruwa et al., 2018).

TABLA 2. Composición química de la pulpa de tuna (porcentaje).

Parámetros	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
Humedad	85,1	91,0	85-90	85,6	83,8	84,2
Proteína	0,8	0,6	1,4-1,6	0,21	0,82	0,99
Grasa	0,7	0,1	0,5	0,12	0,09	0,24
Fibra	0,1	0,2	2,4	0,02	0,23	3,16
Ceniza	0,4	---	---	0,44	0,44	0,51
Azúcar total	---	8,1	10-17	12,8	14,06	10,27
Vitamina C (mg/100 g)	25,0	22,0	4,6-41	22,00	20,33	22,56
β-caroteno (mg/100 g)	---	---	Trazas	Trazas	0,53	---

Fuente: Utilizacion Agroindustrial Del Nopal, (2006).

En la Tabla 2 se presenta la composición química de la parte comestible de los frutos provenientes de plantas cultivadas en varias regiones del mundo como Arabia Saudita, Argentina, Chile, Egipto y México (Servicios & Fao, 2006).

El agua es el componente principal de la fruta y por ello uno de sus mayores atractivos para las zonas áridas y semiáridas; el agua se encuentra protegida por la gruesa cascara, rica en micilagos que la retienen fuertemente y contribuyen a la baja deshidratación de la fruta (Marin-Bustamante et al., 2017).

En la Tabla 3 se presenta la composición mineral de la parte comestible de las tunas cultivadas en diferentes países. Las variaciones observadas pueden atribuirse a la distinta procedencia de las plantas o a factores agronómicos del cultivo como la fertilización o el riego, al clima o a diferencias genéticas de las variedades (Servicios & Fao, 2006).

TABLA 3. Composición mineral de la pulpa de tuna (mg/100 g).

Mineral	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
Ca	24,4	49,0	27,6	12,8	-
Mg	98,4	85,0	27,7	16,1	-
Fe	-	2,6	1,5	0,4	-
Na	1,1	5,0	0,8	0,6	1,64
K	90,0	220	161	217,0	78,72
P	28,2 ^a	-	15,4	32,8	-

Fuente: Utilizacion Agroindustrial Del Nopal, (2006).

También se han observado pequeñas variaciones en la composición química de los frutos de nopales de distintos colores, se llegó a los resultados que se presentan en las Tablas 4 y 5; para los macroelementos y los componentes minerales de tunas de colores (*Opuntia spp.*), se considero fruta de color verde, púrpura y anaranjada, con pulpa de los mismos colores Figura 3 (Romo, Estrada, Haro, Solís, & Cruz-Vázquez, 2006).

TABLA 4. Composición química de pulpas de tuna (porcentaje de la parte comestible).

Parámetros	Tuna verde	Tuna púrpura	Tuna anaranjada
Humedad	83,8	85,98	85,1
Proteína	0,82	0,38	0,82
Grasa	0,09	0,02	-
Fibra	0,23	0,05	-
Cenizas	0,44	0,32	0,26
Azúcares totales	14,06	13,25	14,8
Vitamina C (mg/100 g)	20,33	20,0	24,1
β -caroteno (mg/100 g)	0,53	-	2,28
Betanina (mg/100 g)	-	100	-

Fuente: Utilización Agroindustrial Del Nopal, (2006).



FIGURA 3. Tunas de diversos colores Chile, 1998.

TABLA 5. Composición de pulpas de tuna (porcentaje de la parte comestible).

Mineral	Tuna verde	Tuna púrpura	Tuna anaranjada
Ca	12,8	13,2	35,8
Mg	16,1	11,5	11,8
Fe	0,4	0,1	0,2
Na	0,6	0,5	0,9
K	217,0	19,6	117,7
P	32,8	4,9	8,5

Fuente: Utilización Agroindustrial Del Nopal, (2006).

La variación que se observa en el contenido de algunos de los minerales presentes en los frutos Tabla 5 puede atribuirse a su diversa procedencia. Existen marcadas diferencias en la composición de algunos nopales; es el caso, ya mencionado de *Opuntia xocostle* con respecto a otras como *O. ficus-indica*. Debido a que las diferencias en sus características son importantes para la industrialización; cabe indicar aquí la composición química de la primera de ellas Tabla 6.

TABLA 6. Características promedio de 11 colectas de *Opuntia xocostle*.

Peso fruto (g)	Pulpa (g/100 g)	Materia seca en pulpa (g/100 g)	Sólidos solubles (g/100 g)	Ácido ascórbico (mg/100 g)	Pectinas (g/100 g)
53,36	69,38	6,27	5,32	76,80	0,799

Fuente: Utilización Agroindustrial Del Nopal, (2006).

5.2.3 Cladodios.

Los cladodios, por su parte tienen interés desde el punto de vista industrial ya que cuando los brotes son tiernos (10-15 cm) se usan para la producción de nopalitos, y cuando están parcialmente lignificados (cladodios de 2-3 años), para la producción de harinas y otros productos. En la Tabla 7 se observan las variaciones en la composición de los cladodios de distintas edades (Roma, 2018).

TABLA 7. Composición química de cladodios de distintas edades (porcentaje materia seca).

Edad (años)	Descripción	Proteína	Grasa	Cenizas	Fibra cruda	Extracto no nitrogenado
0,5	Renuevos o nopalitos	9,4	1,00	21,0	8,0	60,6
1	Penca	5,4	1,29	18,2	12,0	63,1
2	Penca	4,2	1,40	13,2	14,5	66,7
3	Penca	3,7	1,33	14,2	17,0	63,7
4	Tallos suberificados	2,5	1,67	14,4	17,5	63,9

Fuente: Utilización Agroindustrial Del Nopal, (2006).

En un estudio efectuado en 20 variedades de nopal y analizando tallos (suberificados), cladodios maduros (penca anual) y cladodios jóvenes (brotes), concluyen al igual que Pimienta, que el contenido de proteínas es mayor en los brotes o renuevos; la fibra cruda aumenta con la edad del cladodio, llegando a 16,1 por ciento en los tallos suberificados, pero siendo cercana a 8,0 por ciento, en promedio, en los renuevos; este hecho también lo observó Tegegne(2000) en un ensayo efectuado en Etiopía. El contenido de cenizas no sigue la misma tendencia, ya que los renuevos presentan un contenido menor de cenizas que los tallos y pencas; dicha variación se debería a la serie de compuestos y elementos que conforman la ceniza y a la estrecha relación de estos con la química de suelos y a los complejos fenómenos de la disponibilidad de sus elementos para la planta por su parte, Rodríguez-Félix y Cantwell (1988), indican que la composición química de los nopalitos frescos es principalmente agua (91 por ciento) y 1,5 por ciento de proteínas; 0,2 por ciento de lípidos; 4,5 por ciento de hidratos de carbono totales; 1,3 por ciento de cenizas, de la cual 90 por ciento es calcio; además, contiene 11 mg/100 g de vitamina C y 30 µg/100 g de carotenoides; el contenido de fibra (1,1 por ciento) la hace comparable a la espinaca (Santiago-Lorenzo et al., 2016).

5.2.4 Flores

De acuerdo a lo señalado anteriormente, las flores se consideran también, al igual que los cladodios o nopalitos, una verdura y se pueden consumir como tales. Estudios efectuados indican que algunos de los componentes presentes son beneficiosos para combatir la hiperplasia prostática benigna, habiendo observado el efecto positivo de un extracto de flores secas (Aruwa et al., 2018).

5.3 Valor nutritivo y propiedades funcionales de cladodios.

Últimamente la tendencia general en el consumo de alimentos es buscar un buen aporte de nutrientes y que además los alimentos sean beneficiosos para la salud. En este contexto existe una nueva gama de alimentos: son los llamados alimentos funcionales, de los que se espera no solo un aporte nutritivo, sino un beneficio para la salud y para la prevención de enfermedades (Roma, 2018).

5.3.1 Valor nutritivo de cladodios.

Los nopalitos por su parte, al igual que otras verduras, contribuyen con una alta proporción de agua a la dieta y son altamente cotizados por su contenido en fibra; forman parte de la dieta común del pueblo mexicano y están siendo ampliamente consumidos en el sur de Estados Unidos de América por la población mexicana allí residente. Esta verdura, es rica en fibra dietética y su contenido es comparable al de varias frutas y hortalizas, entre ellas la espinaca, la alcachofa, la acelga, la berenjena, el brócoli, el rábano y otras. Entre las frutas, es similar al mango, al melón, al damasco y a la uva, al igual que otras hortalizas, los nopales tienen un alto contenido de agua (90,1 por ciento), bajo contenido de lípidos, hidratos de carbono y proteínas y alto contenido de fibra (0,3; 5,6; 1,7 y 3,5 por ciento, respectivamente) (instituto de innovacion en biotecnologia e industria (IIBI), 2019).

Son ricos también en minerales, entre ellos el calcio y el potasio (93 y 166 mg/100 g), respectivamente y tienen bajo contenido de sodio (2 mg/100 g), lo que es una ventaja para la salud humana. Su alto contenido en calcio, los hacen muy interesantes por la importancia de este mineral en la dieta, pero es un problema que debe ser más investigado. McConn y Nakata (2004) en un estudio efectuado en nopalitos señalan, sin embargo, que el calcio presente no estaría disponible para la utilización por el cuerpo humano, ya que se encuentra bajo forma de cristales de oxalato de calcio. Contiene, además, cantidades moderadas de carotenoides (30 µg/100 g) y de vitamina C (11 mg/100 g) (Marin-Bustamante et al., 2017).

5.3.2 Propiedades funcionales de cladodios.

Los compuestos funcionales son aquellos que tienen efectos beneficiosos para la salud y tanto los frutos como los cladodios de la tuna son una fuente interesante de tales componentes, entre los que destacan la fibra, los hidrocoloides (mucílagos), los pigmentos (betalaínas y carotenoides), los minerales (calcio, potasio), y algunas vitaminas como la vitamina C, buscada entre otros motivos, por sus propiedades antioxidantes; todos estos compuestos son muy apreciados desde el punto de vista de una dieta saludable y también como ingredientes para el diseño de nuevos alimentos (Roma, 2018).

Entre estos compuestos funcionales, la fibra dietética es uno de los componentes más estudiados desde el punto de vista de la nutrición y la relación que existe entre fibra y salud, por ejemplo para el control del colesterol y prevención de algunas enfermedades como diabetes y obesidad. La fibra dietética está constituida por diferentes componentes resistentes a las enzimas digestivas, entre ellos la celulosa, la hemicelulosa y la lignina (Castillo et al., 2013).

Según su solubilidad en agua, la fibra se clasifica en soluble e insoluble; la primera la conforman mucílagos, gomas, pectinas y hemicelulosas y la insoluble es principalmente celulosa, lignina y una gran fracción de hemicelulosa, estas fracciones de fibra tienen efectos fisiológicos distintos: es así como la fibra soluble se asocia con la reducción de los niveles de glucosa y de colesterol y la estabilización del vaciamiento gástrico y la fibra insoluble con la capacidad de retención de agua (aumento del peso de las heces), el intercambio iónico, la absorción de ácidos biliares, minerales, vitaminas y otros y su interacción con la flora microbiana. Los cladodios son una fuente importante de fibra, de calcio y de mucílagos, tres componentes que son necesarios para integrar una dieta saludable (Ejecutiva et al., n.d.).

Los pigmentos presentes en los frutos de los nopales, como los carotenoides y las betalaínas, se destacan por su poder antioxidante. El poder antioxidante de los betacarotenos y flavonoides es bien conocido, pero el de las betalaínas ha comenzado a ser estudiado recientemente por lo que su consumo para evitar el envejecimiento de los tejidos podría competir con el que se busca en otros vegetales como la naranja o la uva roja (Aruwa et al., 2018).

5.3.3 Aprovechamiento de cladodios.

Tal como se ha señalado, los nopales son dignos de ser considerados para la industrialización no solo por sus frutos y cladodios. Del mismo modo que cualquier otro vegetal utilizado para consumo humano, la tuna y los cladodios se conservan y transforman aplicando tecnologías equivalentes de procesamiento, y existen alimentos tradicionales preparados en base a tuna y nopalitos. Se cuentan entre ellos alimentos en base al fruto: mermeladas, jugos y néctares; productos deshidratados; jugos concentrados, jarabes y licores. En base a los cladodios se encuentran, entre otros, encurtidos, jugos, mermeladas y productos mínimamente procesados (Gastronomía, 2016).

Además existen en estas plantas valiosos y atractivos compuestos funcionales que pueden ser extraídos y utilizados para formular y enriquecer nuevos alimentos, para formar parte de la cada vez más cotizada gama de aditivos naturales (gomas, colorantes) tanto para la industria alimentaria como farmacéutica y cosmética, para formular suplementos alimenticios, ricos en fibra o con fines de control de la diabetes o la obesidad, entre otros. Por otra parte, es importante la utilización indirecta de la planta como hospedero de la cochinilla del carmín para producir colorantes naturales (Roma, 2018).

Sin duda, la posibilidad de utilización integral de esta especie es de especial atractivo e interés para el sector agroindustrial, ya que toda industria busca obtener el máximo provecho de sus materias primas. Es una forma específica de aumentar la rentabilidad de la empresa y además se evita la eliminación de desechos. Estos, al ser producidos, pasan no solo a formar parte de las pérdidas de los procesos, influyendo directamente en la rentabilidad de los mismos, sino que además, si no son tratados oportuna y adecuadamente, pueden contaminar el entorno como residuos líquidos o sólidos, provocando en ocasiones daños ambientales irreversibles. En la Tabla 8 se presenta un esquema de algunas alternativas de procesamiento integral que tienen los nopales (Castillo et al., 2013).

Son muchos los sectores industriales que se pueden beneficiar con la explotación de los nopales, desde la industria alimentaria y sus industrias asociadas, hasta la industria de la construcción, pasando por la farmacéutica y la de cosméticos. A continuación se mencionan una serie de sectores industriales que pueden obtener y/o beneficiarse con productos obtenidos a partir de los nopales:(Bejuma et al., 2009).

- agroindustria de alimentos y bebidas para consumo humano (producción de diversos alimentos, bebidas alcohólicas y analcohólicas de tuna y nopalitos).
- agroindustria de alimentos para animales (suplementos y piensos de cladodios y de desechos de la industria procesadora de tuna, como las cáscaras y semillas).
- industria farmacéutica (protectores gástricos de extractos de mucílagos; cápsulas y tabletas de polvo de nopal).
- industria cosmética (cremas, champúes, lociones de cladodios);
- industria de suplementos alimenticios (fibra y harinas de cladodios).
- industria productora de aditivos naturales (gomas de cladodios; colorantes de la fruta).
- sector de la construcción (compuestos ligantes de los cladodios).
- sector energético (producción de biogás a partir de las pencas).
- sector productor de insumos para la agricultura (productos del nopal como mejoradores del drenaje de suelos).
- sector turismo (artesanías en base a cladodios lignificados).
- industria textil (uso de colorantes naturales como el carmín de cochinilla).

TABLA 8. Algunos productos alimenticios, subproductos y aditivos obtenidos de las tunas y los cladodios.

Productos		Subproductos
Tunas	Cladodios	Tunas y cladodios
Jugos y néctares	Jugos	Aceite de las semillas
Mermeladas, geles y jaleas	Encurtidos y salmueras	Mucílagos de los cladodios
Fruta y láminas deshidratadas	Mermeladas y jaleas	Pigmentos de las cáscaras y frutos
Edulcorantes	Harinas	Fibra dietaria de los cladodios
Alcoholes, vinos y vinagres	Alcohol	Pasta forrajera de la cáscara y las semillas
Fruta enlatada	Confites	
Fruta y pulpa congelada	Salsas	
	Nopalitos	

Fuente: Utilización Agroindustrial Del Nopal, (2006).

Existen amplias posibilidades de utilización de las diversas partes de la planta, así como la existencia de diferentes especies de nopales que proporcionan frutos de diversos colores y cladodios con diversas utilidades dependiendo de su madurez (aptos tanto para el consumo humano y para alimentación animal). La posibilidad alternativa, de producción de cochinilla en las pencas y la potencial obtención de una variada gama de compuestos funcionales para la industria de suplementos alimenticios y de cosméticos es una ventaja de los nopales frente a otros vegetales ya que se pueden destinar al sector agroindustrial o pueden entrar a formar parte de la dieta humana (Ejecutiva et al., n.d.).

5.4 Harina de nopal.

Para obtener la harina se desarrollan las etapas de recepción selección, lavado, y desinfección, rebanado, secado, molienda, empaque, almacen y distribución, haciendo énfasis en el control de parámetros de secado para cuantificar los costos de este proceso por el consumo alternativo de energía (eléctrica, gas). Se llevan a cabo varios ensayos para evaluar la efectividad de los procesos y parámetros en cada una de las etapas, como temperatura, densidad, tiempo y rendimiento de tal manera que se pueda obtener un producto de calidad, que satisfaga las expectativas del consumidor y el mercado (Instituto de Innovación en Biotecnología e Industria (IIBI), 2019).

5.4.1 Materiales y procedimientos para harina de nopal.

La materia prima a utilizar es el Nopal, en estado verde, el cual debe estar íntegro sin ningún defecto ni contaminante. Los equipos a utilizar en el proceso de elaboración son los siguientes. (Instituto de Innovación en Biotecnología e Industria (IIBI), 2019).

- Equipo de lavado y limpieza: el equipo de lavado y limpieza es un cilindro giratorio que posee duchas integradas y láminas dentadas de acero inoxidable. Al entrar las pencas de Nopal en este equipo, estas van girando dentro del cilindro y van siendo lavadas con el agua que sale de las duchas y limpiadas con láminas dentadas de acero inoxidable, quedando listo para la próxima operación.
- Equipo de picado o rebanado: el rebanado se lleva a cabo manualmente, también puede efectuarse por medio de una máquina que tiene la ventaja de dar un resultado más uniforme.

- Equipo de secado: el secado es la operación mas importante de este proceso y depende del equipo utilizado para deshidratar el Nopal. Esta operación puede realizarse en un secador solar, un horno deshidratador, o deshidratador a gas.
- Secador de horno: el secado de los Nopales se realizo en un secador por conveccion de aire. Este secador contiene 24 bandejas perforadas en el fondo, sobre las cuales se coloca el producto. Este se somete a una corriente ascendente de aire puesto en circulacion por un extractor y calentado con llamas. La temperatura de entrada del aire (T_i) es de 80°C y la de salida (T_f), de 55.58°C . Se utiliza presion atmosferica y el tiempo de exposicion es aproximadamente de 4 horas, rebanado a 2 cm. Y el 9% de humedad en el producto final.
- Equipo de molienda: el equipo de molienda utilizado es el Molino Manesty Fitzmill Universal Modelo "D". La eficiencia de este molino está determinada por la gran superficie de cedazo que le es presentada a la cámara de material de molienda; la flexibilidad es debida a la variedad de relaciones posibles por las diferentes combinaciones de velocidad, tamaño de las aperturas del cedazo y tipo de cuchillas. El molino esta construido de acero inoxidable, consiste en una cámara cuya parte inferior soporta un cedazo intercambiable.

5.4.2 Proceso de harina de nopal.

- Recepcion y selección del Nopal. El Nopal se transporta por lotes, en los medio de transporte local, hasta la planta de proceso. Aquí se examinan de forma rigurosa con el propósito de detectar si hay algún riesgo o peligro microbiológico, físico o químico, seleccionamos los que cumplen los estándares de calida. Esta operación debe ser documentada y supervisada para lograr un proceso con resultados deseados. Es muy importante pesar la materia prima para establecer los parámetros de proceso y rendimiento (Castillo et al., 2013).
- Lavado y limpieza. Esta operación consiste en lavar el Nopal con el objetivo de eliminar impurezas adheridas y evitar contaminaciones en el producto. El lavado se puede realizar de manera manual o mecánica; pero, se elige la que presente las mayores y mejores ventajas. El lavado manual presenta un alto costo de operación, expone a la materia prima más en contacto con el medio por lo que estaría más expuesto a contaminarse, por contaminación adquirida por los

operarios o contraídas del medio ambiente. El lavado mecánico, implica una inversión al inicio de la operación, pero es rentable por la reducción de los costos de operación en los procesos. Este ocuparía menos espacio físico, hay mayor rapidez y eficiencia. Un aspecto negativo, es que no contribuye a la generación de empleo (Castillo et al., 2013).

- Picado o trozado. Los Nopales se dividen en rebanadas de 2cm de espesor, lo cual permitirá un secado rápido y disminuir los costos. Es importante mantener un tamaño uniforme para que el secado sea homogéneo con un porcentaje de humedad deseado (Castillo et al., 2013).
- Secado. Los Nopales rebanados son colocados en bandejas perforadas y se llevan al horno para deshidratarlos. La duración del secado es aproximadamente de 4 a 6 horas con una humedad del 9% en el producto final.(Castillo et al., 2013).
- Molienda. Esta operación consiste en disminuir el tamaño de las partículas, de los Nopales deshidratados, a la granulometría que establece la normativa de la harina vegetal en μ M (Castillo et al., 2013).
- Tamizado. Es pasar por un tamiz la molienda para obtener la granulometría deseada. Los controles de calidad del producto final es verificar la ausencia de partículas extraña o de tamaño mayor a la apertura del tamiz (Castillo et al., 2013).
- Envasado y empaclado. El envasado debe garantizar que no pase la luz al producto. Como plástico y cajas para evitar derrame o perforaciones, luego se lleva al almacén para su posterior distribución. Todos los procesos cuentan con su debido control de calidad, registro y supervisión (Castillo et al., 2013).

TABLA 9. Diferentes tipos de tamiz.

Granulometría:	
Malla	%
Retenido	
600 μ M	0.29
250 μ M	11.29
180 μ M	12.61
150 μ M	7.67
75 μ M	34.18
38 μ M	24.91
PLATO	9.25

Fuente: Instituto de Innovación en Biotecnología e industria (IIBI) 2019.

5.5 Tipos de moliendas.

La alta energía debida al choque de bolas, contenedor y material, origina la aleación mecánica producto del efecto combinado de deformación, soldadura e impacto entre las bolas de molienda y el material. Lo anterior garantiza que el proceso de aleación se realice en estado sólido, sin presentarse cambios de fase de los materiales. Con base en la necesidad de realizar investigación, en laboratorio, alrededor de las ventajas de la aleación mecánica, se generó la idea de diseñar y posteriormente construir un molino para producirla, lo anterior justificado en los altos costos de importación de un molino diseñado y construido en el exterior (Herrera, Distrito Federal; Grueso; Jaramillo, 2005).

5.5.1 El molino tipo Attritor horizontal

Cuenta con una cámara de molienda donde se depositan tanto material como medios molidores, estos se encuentran en contacto directo con el impulsor y las paletas, las cuales aprovechan la velocidad que entrega el motor y la acción de la gravedad, garantizando que las bolas estén en contacto permanente entre ellas y el contenedor. El impulsor debe tener un tratamiento térmico resistente al desgaste. El concepto más importante del Attritor es que la entrada de energía está utilizada directamente para agitar los medios que permiten moler y no se utiliza ningún sistema para rotar o vibrar algún tipo de tanque que origine pérdidas de potencia (Herrera, Distrito Federal; Grueso; Jaramillo, 2005).

5.5.2 Molino vibratorio.

Es un sistema que aprovecha la vibración para desempeñar su trabajo, es importante la acción tridimensional ya que produce un movimiento exacto, de alta frecuencia y se puede moler una mayor variedad de materiales a tamaños de partícula cercanas a la medida del micrón, gracias a que combina movimiento centrífugo y axial que garantiza una molienda homogénea, convirtiéndose en equipos de alta eficiencia. En este sistema se usa un motor convencional para lograr la combinación de los dos movimientos.(Herrera, Distrito Federal; Grueso; Jaramillo, 2005).

5.5.3 Molino Planetario.

Por lo general posee medios de molienda esféricos y de alta energía, tiene normalmente entre 2 y 4 jarras que rotan alrededor de un eje central común, los medios que muelen y pulverizan el material se da por impacto, agotamiento o acción combinada. El planetario acumula una fuerza centrífuga fuerte con la rotación y la revolución de sus jarras. Cabe destacar que cuando se trata de transmitir alta energía de impacto con un sistema mecánico de mediana sencillez, este se convierte en la primera opción para generarlo y se convierte en el más utilizado para producir aleación mecánica. A continuación se pueden observar en la Figura 4 diferentes tipos de molinos. (Herrera, Distrito Federal; Grueso; Jaramillo, 2005).



FIGURA 4. a) Molino tipo Attritor horizontal, b) Molino Vibratorio y c) Molino planetario.

5.6 Tamaño de partículas en harinas.

Un analizador NIR portátil para determinar el tamaño de partícula de las fracciones más pequeñas de la harina:(Group, 2019).

- Identificación y medición del tamaño de partícula de productos en polvo.
- Detección y cuantificación de adulteraciones en materia prima.
- Toma de mediciones incluso a través de embalajes de plástico.
- Dispositivo portátil para ser utilizado en el almacén o en el exterior.
- Fácil uso gracias a su interfaz intuitiva y su pantalla táctil.

5.6.1 Control de calidad del tamaño de partícula de harina.

La medición del tamaño de partícula de la harina es un punto clave para la determinación de su calidad. Tradicionalmente, estas mediciones se realizaban mediante análisis granulométricos, microscópicos, sedimentarios o difracción láser. En algunos casos, estos análisis implican tediosos procedimientos y equipación bastante costosa (Group, 2019).

Por el contrario, la tecnología NIR es muy sensible al tamaño de partícula de las muestras de polvo, por lo que ofrece la ventaja de llevar a cabo análisis más rápidos y fáciles, sin recurrir a métodos destructivos. Todo ello permite la automatización del control de calidad, que puede ser llevado a cabo en la línea de producción o directamente en el molinero. El Visum Palm es capaz de determinar la distribución del tamaño de partícula en muestras de harina, detectando incluso variaciones más bajas a 6.5% en la fracción más pequeña de tamaño de partícula ($<0.125\mu\text{m}$), a través de bolsas de plástico y en menos de 5 segundos (Group, 2019).

5.7 Digestibilidad.

La ganadería extensiva, desarrollada en zonas de condiciones áridas y semiáridas en México, se encuentra expuesta a una marcada temporada de estiaje, durante la cual la escasez de pastos es una situación común, lo que provoca mermas en la producción del ganado; a lo largo de dicha época, el nopal forrajero (*Opuntia ficus-indica*) representa un recurso alimenticio importante por su capacidad de producción de cladodios suculentos, susceptibles de ser aprovechados como forraje para el ganado. Esta planta se caracteriza por presentar alrededor de 5% de proteína, una elevada concentración de carbohidratos solubles y calcio, además de la digestibilidad in situ a 48 horas de 68%, FDN 47% y FDA 16% por ser un recurso forrajero valioso, es necesario proponer alternativas para lograr su aprovechamiento integral (Romo et al., 2006).

Se dice que la actividad enzimática y la digestibilidad dependen del tipo y origen de la propia enzima, del sustrato en que actúe, y del pH, reportándose que la máxima actividad de xilanasas y celulasas se observa a un pH de 6 a 6,5 aunque pH bajos pueden no afectar su actividad, y la digestibilidad puede ser reflejo del sinergismo entre las enzimas exógenas y los tipos de microorganismos ruminales presentes (Pérez, Velasco, Contreras, Martínez, & Guerra, 2004).

El nivel fijo de alimentación normalmente se utiliza cuando se quiere medir la digestibilidad de un alimento a un nivel de consumo que se aproxime a mantenimiento. Sin embargo Lascano et al., (1990) señala que lo más común es medir digestibilidad y consumo en condiciones de alimentación ad libitum, tomando como nivel un 15% más de alimento sobre el consumo máximo observado (Tobal, 1986).

En la literatura, se menciona que la actividad enzimática y la digestibilidad dependen del tipo y origen de la propia enzima, del sustrato en que actúe los valores de digestibilidad, cuando se utilizó la dieta baja en harina de nopal deshidratado, resultaron superiores a la dieta con alto contenido de esa harina, lo cual se explica por la naturaleza propia de ambas dietas, pues la que es alta en harina de nopal deshidratado resulta menos fibrosa que la dieta baja, y promueve un menor crecimiento de la población bacteriana especializada en la degradación de la fibra; y, así, se confirma de nuevo la baja importancia de aplicarse enzimas fibrolíticas, cuando la cantidad de fibra es baja, o los componentes de esta son de fácil degradación (Romo et al., 2006).

Dado que la dieta alta en harina de nopal deshidratado contenía menos fibra que la dieta baja, el grado de obstrucción de esta barrera era menor, por lo que el efecto de degradación de las enzimas exógenas fue menor (Romo et al., 2006).

6. MATERIALES Y MÉTODOS

En este capítulo se presenta el desarrollo experimental del proyecto de investigación. En la Figura 5 se muestra el diagrama de flujo general.

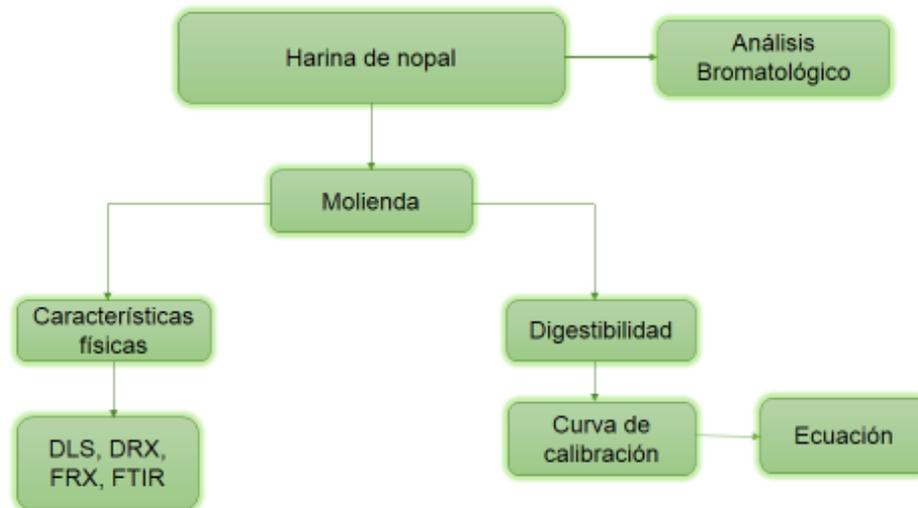


FIGURA 5. Diagrama de flujo.

6.1 Adquisición de harina de nopal (*Opuntia Ficus Indica*)

Se adquirió harina de nopal comercial de la marca Heganatura, la cual consta de nopal deshidratado, 100% puro, sin excipientes ni conservadores.

6.1.1 Análisis Bromatológico.

Se realizó análisis bromatológico de la harina de nopal para conocer la composición química de la misma. Dicho análisis fue realizado en el Departamento de Nutrición Animal de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

6.3 Molienda en molino Planetario.

Con este equipo se realizaron moliendas a diferentes tiempos 0 m, 15 m, 30 m, 60 m, 120 m y 240 m, dichas moliendas se llevaron a cabo a 400 rpm con pausas de 10 s. Para llevar a cabo la molienda se utilizaron 6 bolas de 10.79 gr y 3 bolas de 5.39 gr.

Dicho análisis se hizo en la Facultad de Ciencias Químicas en la Universidad Autónoma de Coahuila en un molino planetario Retsch con mortero y bolas de zirconia.

6.4 Determinación de tamaño de partícula.

La determinación del tamaño de partícula se hizo mediante el análisis de rastreo de nanopartículas (NTA) por sus siglas en inglés, el cual utiliza las propiedades tanto de dispersión de luz como de movimiento browniano para obtener la distribución del tamaño de las partículas en muestras en suspensión líquida.

Se analizó el tamaño de partículas de cada muestra de harina a los diferentes tiempos de molienda (0 min, 15 min, 30 min, 60 min, 120 min y 240 min). De cada muestra de harina se pesó 0.010 gr y se diluyeron en 10 mL de agua, posteriormente se tomaron 100 μ L y se mezclaron en 10 mL de agua y se inyectó al equipo. Todas las pruebas se hicieron por triplicado.

Este análisis se realizó en el Centro de Investigación en Química Aplicada en un equipo NANOSIGHT NS300.

6.5 Difracción de rayos X (DRX)

Se utilizó la técnica de Difracción de rayos X (DRX) para determinar el análisis cualitativo y semicuantitativo de las fases en todas las muestras. Para esto se empleó un equipo PANALytical modelo Empyrean. Los patrones de DRX fueron obtenidos empleando radiación $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1.54 \text{ \AA}$) en el rango 2θ de $10\text{-}80^\circ$, usando una velocidad de barrido de $0.02^\circ/\text{s}$, un voltaje de 40 kV y una corriente de 30 mA.

Este análisis se realizó en la Facultad de Ciencias Químicas en el Laboratorio de Cerámicos de la Universidad Autónoma de Coahuila.

6.6 Fluorescencia de rayos X (FRX).

Esta técnica se utilizó para cuantificar los macro y micro nutrientes presentes en las muestras del nopal así como cuantificar el grado de contaminación debida al proceso de molienda, ya que posiblemente se podría presentar una contaminación debida al desgaste tanto del mortero como de las bolas con los cuales se llevó a cabo la molienda.

Las muestras se prepararon colocándolas en el portamuestras, en el cual se agregan 7 g de polvo, una vez preparada la muestra esta se colocó en el equipo de FRX y se analizó por 15 min, este procedimiento se repitió para los diferentes tiempos de molienda. Dicho trabajo se hizo en la Facultad de Ciencias Químicas en la Universidad Autónoma de Coahuila en un equipo PANalytical Epsilon 1.

6.7 Análisis de espectro infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR)

En esta técnica se utilizó 0.1 gr de cada muestra en total seis muestras cada una marcada con el tiempo de molienda y se llevó a analizar en el Departamento de Análisis Instrumental en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Coahuila.

6.8 Digestibilidad.

El análisis de digestibilidad se llevó a cabo midiendo la actividad de la enzima α -Amilasa sobre las muestras de nopal a diferentes tiempos de molienda, de acuerdo a la metodología descrita por (Pérez et al., 2004). Ver Anexo 3 para detalles de la preparación de técnica utilizada.

6.8.1 Preparación de curva de harina de nopal.

1. Preparar las muestras con la solución madre, de acuerdo con lo indicado en la Tabla 10.

TABLA 10. Preparación de muestras con solución madre.

Solución madre	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Blanco
0 min	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml
15 min	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml
30 min	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml
60 min	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml
112 min	1ml	1 ml	1 ml	1 ml
240 min	1ml	1 ml	1 ml	1 ml

2. A la preparación anterior agregar la cantidad de solución de α -Amilasa que se indica en la Tabla 11, agitar suavemente y mantener a 20°C.

TABLA 11. Cantidad de solución de α -Amilasa para cada una de las muestras.

Solución α-Amilasa	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Blanco
0 min	0.50 ml	0.70	1 ml	-
15 min	0.50 ml	0.70	1 ml	-
30 min	0.50 ml	0.70	1 ml	-
60 min	0.50 ml	0.70	1 ml	-
112 min	0.50 ml	0.70	1ml	-
240 min	0.50 ml	0.70	1 ml	-

3. Agregar 1 mL de solución DNS final a todas las muestras y a los blancos, dejando incubar por 3 min exactos a una temperatura de 20°C.
4. Tapar todas las muestras y llevar a ebullición a baño maría por 15 min exactos. Enseguida sacarlos y agregarles la cantidad de solución de α -Amilasa que se indica en la Tabla 12.

TABLA 12. Cantidad de solución de α -Amilasa agregada a cada muestra.

Solución α-Amilasa	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Blanco
0 min	0.50 ml	0.30 ml	-	1 ml
15 min	0.50 ml	0.30 ml	-	1 ml
30 min	0.50 ml	0.30 ml	-	1 ml
60 min	0.50 ml	0.30 ml	-	1 ml
112 min	0.50 ml	0.30 ml	-	1 ml
240 min	0.50 ml	0.30 ml	-	1 ml

5. Se procedió a enfriar todas las muestras en hielo y agregarles 9 mL de agua desionizada.

6. Se tomaron lecturas en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 540 nm a todas las muestras y los blancos, se registraron los resultados.

Cálculos

1. Determinar la ΔA_{540} para cada estándar contra el estándar blanco.

$$\Delta A_{540} (\text{estándar}) = A_{540}(\text{estándar}) - A_{540}(\text{estándar blanco})$$

2. Preparar la curva de calibración graficando ΔA_{540} contra los μg de glucosa usando una regresión lineal (Anexo 4).

3. Determinar ΔA_{540} de cada muestra contra el blanco

$$\Delta A_{540} (\text{muestra}) = A_{540}(\text{muestra}) - A_{540}(\text{blanco})$$

4.
$$\frac{\text{Unidades } \alpha\text{-Amilasa}}{\text{mL } \alpha\text{-Amilasa}} = \frac{\mu\text{g glucosa liberada}}{\text{mL } \alpha\text{-Amilasa}}$$

5.
$$\frac{\text{Unidades } \alpha\text{-Amilasa}}{\mu\text{g muestra}} = \frac{\frac{\text{Unidades } \alpha\text{-Amilasa}}{\text{mL } \alpha\text{-Amilasa}}}{\frac{\mu\text{m muestra}}{\text{mL } \alpha\text{-Amilasa}}}$$

El análisis de digestibilidad se realizó en el Laboratorio de Inocuidad y Empaques del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos de nuestra universidad.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Adquisición de harina de nopal (*Opuntia Ficus Indica*)

Se adquirió harina de nopal comercial de la marca Heganatura, la cual consta de nopal deshidratado, 100% puro, sin excipientes ni conservadores. Como se muestra en la Figura 6.

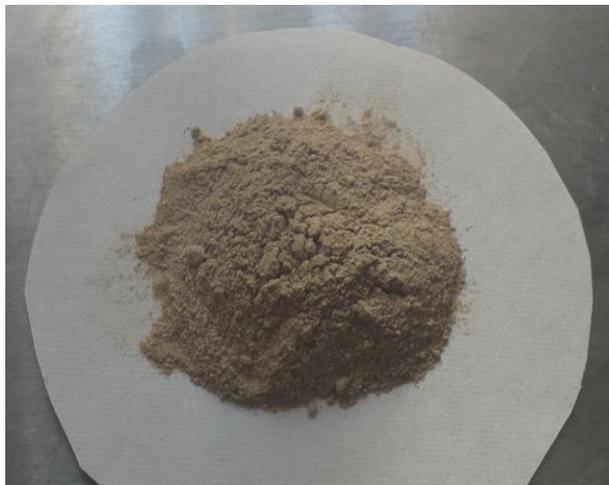


FIGURA 6. Harina comercial.

7.1.1 Análisis Bromatológico.

	% MST	% H	% C	% PC	% EE	% FC	% ELN
Nopal	92.10	7.90	17.87	1.97	1.69	24.39	54.08

Valores ajustados en base a % materia seca total

% MST: Materia seca total

% H: Humedad

% C: Minerales totales

% PC: Proteína cruda.

% EE: Grasa cruda

% FC: Fibra cruda.

% ELN: Extracto libre de nitrógeno o carbohidratos.

De acuerdo con el análisis bromatológico se encontró que el contenido de humedad es bajo, este resultado se esperaba ya que las características de la harina adquirida eran las de un producto deshidratado. Se reporta que el contenido de minerales es de 17.87%, el reporte de este estudio no contempla los tipos de minerales que se encuentran en la harina de nopal, pero estos se obtendrán del análisis de FRX que se reporta más adelante. También se reporta que el contenido de fibra es del 24.39%, el cual es más alto que los reportados en otros trabajos en los cuales los contenidos van del 12 al 18% (Gastronomía, 2016)

7.2 Molienda en molino planetario.

En la Figura 7 se observan las diferentes muestras a los diferentes tiempos de molienda, con el ciclo de molienda que anteriormente se describió. A simple vista se observa que el color de las muestras va cambiando conforme aumenta el tiempo molienda, dicho cambio se puede atribuir al cambio en el tamaño de partícula debido a los diferentes tiempos de molienda al que fueron sometidos.

La muestra de 0 min de molienda tiene un color verde oscuro y conforme aumentan los tiempos de molienda (15, 30, 60, 120 y 240 min) el color de las muestras pasa del verde oscuro al verde claro.

Este comportamiento está en concordancia con otros estudios en los que conforme disminuye el tamaño de partícula el color de las muestras pasa de tonos oscuros a tonos cada vez más claros, debido al proceso de molienda al que fueron sometidos (Sakhare, Inamdar, Soumya, Indrani, & Rao, 2014).



FIGURA 7. Muestras tratadas con diferentes tiempos de molienda.

7.3 Determinación de tamaño de partícula.

En la Figura 8 se observa el comportamiento del tamaño de partícula de las muestras a los diferentes tiempos de molienda. Los datos que se están reportando son el promedio de la moda de cada una de las muestras.

La muestra con 0 min de molienda, la cual es la muestra de harina de nopal tal como se adquirió, tuvo un tamaño de partícula de 217 nm. Para los tiempos de molienda de 15, 30 y 60 min los tamaños de partícula fueron de 178, 147 y 107 nm respectivamente, lo

cual nos indica que conforme se aumenta el tiempo de molienda los tamaños de partícula se reducen hasta más de un 50%. Para el tiempo de 120 min se observa que los tamaños de partícula tienden a aumentar, registrándose un tamaño de 186 nm, lo cual se atribuye a la formación de agregados de partículas, debido al efecto de las fuerzas de Van der Waal y las fuerzas electrostáticas de Coulomb que actúa sobre las partículas cuando alcanzan la nanoescala (Krishna & Patel, 2019). A las 240 min se observa otra vez una disminución en el tamaño de partícula, se presentan tamaños de 157 nm, lo que nos indica que al aumentar el tiempo de molienda los aglomerados de partículas tiendan a disminuir y es posible observar una disminución en los tamaños de las mismas (Louati et al., 2018).

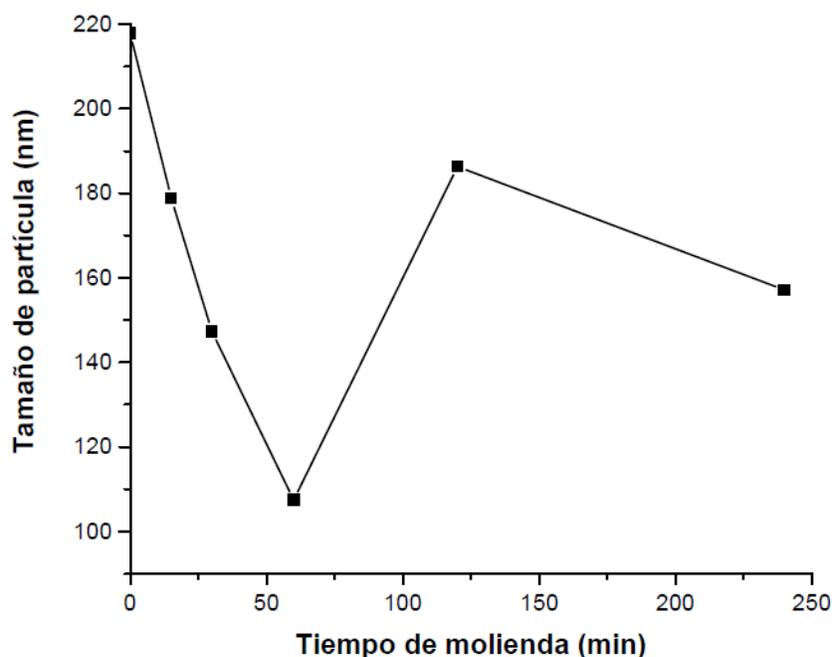


FIGURA 8. Tamaño de partícula contra tiempo de molienda.

7.4 Análisis de los patrones de difracción de rayos X (DRX)

En la Figura 9 se presentan los difractogramas de las muestras a los diferentes tiempos de molienda. Para todos los tiempos de molienda es posible observar los picos característicos correspondientes al Oxalato de calcio (CaC_2O_4) (JCDPS No. 00-003-0087) y al Carbonato de calcio (CaCO_3) (JCDPS No. 00-080-2798), los cuales forman

parte de la composición química del Nopal (*Opuntia Ficus-indica*). Otro aspecto que se observa en los difractogramas es la disminución en las intensidades de los picos de difracción conforme aumentan los tiempos de molienda, lo que indica que la concentración de la fase de Oxalato de calcio va disminuyendo en las muestras (Contreras-Padilla et al., 2011).

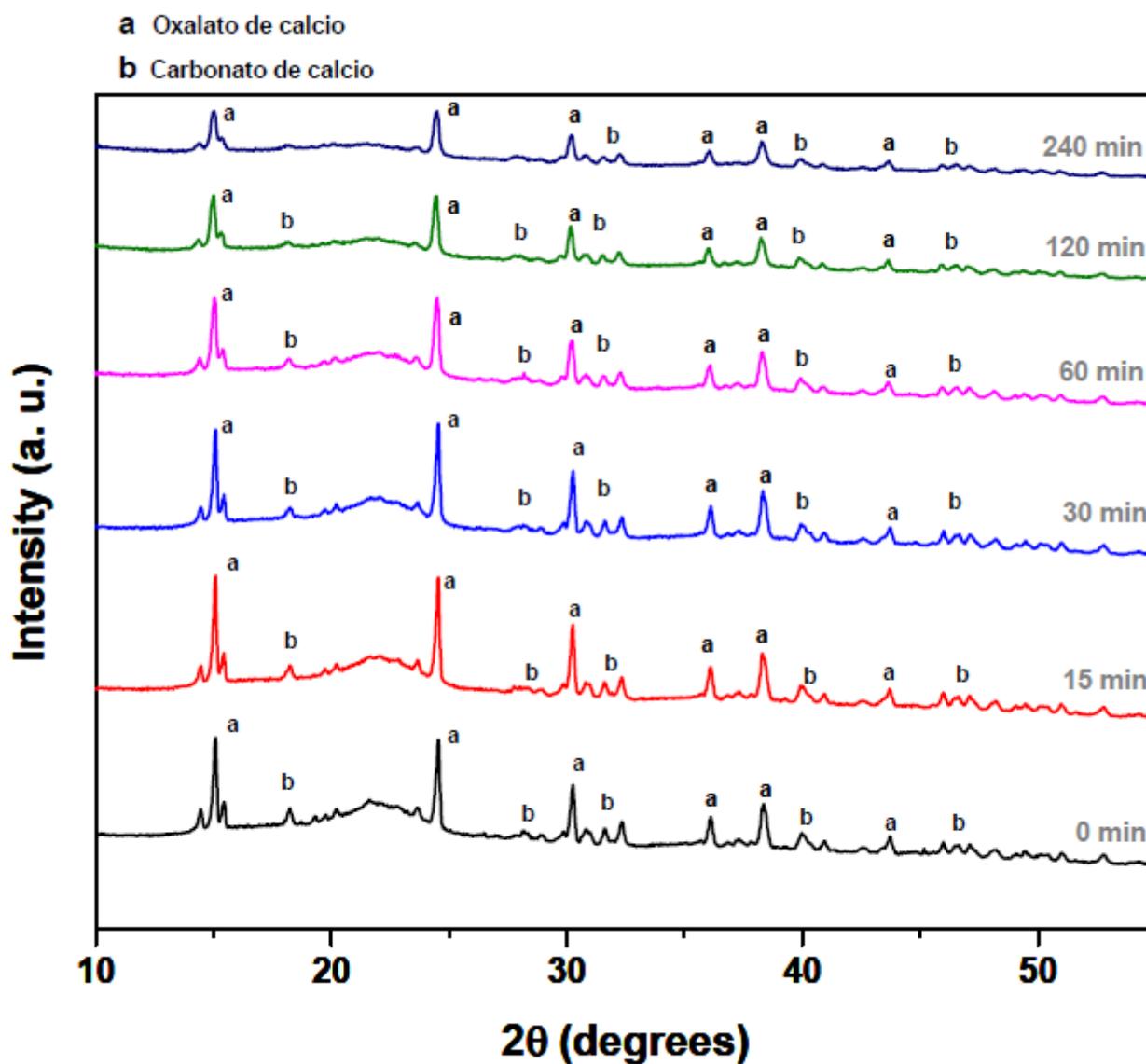


FIGURA 9. Patrones de difracción.

En cada uno de los difractogramas se observa una región cristalina y otra amorfa entre los valores de 15° y 25°, la cual corresponde a la celulosa Tipo 1 presente de manera natural en el Nopal (*Opuntia Ficus-indica*) (Mannai et al., 2018). A partir de los 60 min de tiempo de molienda se observa que la región amorfa de la celulosa comienza a disminuir, lo que nos indica que las muestras sufren un reacomodo en su estructura cristalina, aumentando su cristalinidad al aumentar el tiempo de molienda (Ramezani Kakroodi, Panthapulakkal, Sain, & Asiri, 2015).

Además de lo anteriormente mencionado, en los difractogramas no fue posible detectar ninguna fase correspondiente a algún compuesto de zirconia, el cual es el material del que está fabricado el molino planetario, lo que indica que el grado de contaminación debida al proceso es baja. Dicho grado de contaminación se corroborará en análisis subsiguientes.

7.5 Análisis de fluorescencia de rayos X (FRX).

El análisis de FRX se utilizó para determinar cualitativamente y cuantitativamente los micro y macronutrientes presentes en las muestras a los diferentes tiempos de molienda. En el Anexo 1 se presentan los análisis de FRX para todos los elementos presentes en las muestras.

Los porcentajes de los diferentes nutrientes presentes en las muestras no presentaron un cambio significativo como se muestra en la Tabla 13, lo cual nos indica que el proceso de molienda no tuvo un impacto negativo en el contenido nutricional de las muestras bajo los diferentes tiempos de molienda (Santiago-Lorenzo et al., 2016). Este análisis confirmó que el contenido del elemento Calcio es alto (54%), el análisis de DRX que se discutió anteriormente nos ayudó a determinar los tipos de compuestos de calcio presentes en las muestras.

En la Tabla 13 también se reporta el contenido del elemento zirconia en las muestras para los diferentes tiempos de molienda, debido a que el proceso de molienda se llevó a cabo en un mortero de zirconia y las bolas también eran del mismo material, se sabía de

antemano que se tendría una contaminación por zirconia, pero se buscaba que esta no fuera mayor del 1% (Kalavathi & Kumar, 2019).

De acuerdo con el análisis de FRX en ninguna de las muestras se alcanzó el 1% de contaminación con zirconia, de hecho, el máximo grado de contaminación que se alcanzó fue el 0.1% para la muestra de 240 min de molienda (Bilo et al., 2015).

TABLA 13. Análisis de fluorescencia a rayos X en diferentes tiempos de molienda.

Muestra	Macro nutrientes (%)				Micro nutrientes (%)				Contaminación Zr (%)	Otros constituyentes (%)
	Mg	P	K	Ca	Mn	Fe	Zn	Cu		
0 min	15.245	1.973	18.383	54.366	0.131	1.522	0.065	0.034	0	91.719
15 min	14.209	1.839	16.906	57.172	0.12	1.533	0.064	0.034	0.021	91.898
30 min	13.115	1.81	17.045	57.666	0.121	1.657	0.061	0.033	0.015	91.523
60 min	13.892	1.802	16.778	57.248	0.127	1.603	0.06	0.032	0.016	91.558
112 min	13.249	1.79	17.01	57.338	0.128	1.696	0.058	0.033	0.073	91.375
240 min	13.411	1.797	16.942	57.106	0.122	1.755	0.064	0.033	0.1	91.33

7.6 Análisis de espectro infrarrojo con transformada de Fourier FTIR.

De la Figura 10 es posible apreciar los espectros infrarrojos para las harinas de nopal obtenidas a partir de los diferentes tiempos de molienda, donde es posible apreciar que las bandas de absorción características de los componentes de las harinas obtenidas no presentan corrimientos.

De dichas bandas se destaca la presencia de una banda ancha a los 3360 cm^{-1} atribuida al estiramiento O-H de los ácidos carboxílicos. A los 2932 y 2856 cm^{-1} se pudo observar la banda indicativa de las vibraciones de los estiramientos asimétricos correspondientes los enlaces CH_2 de los alcanos presentes en la muestra. A los 1620 cm^{-1} se evidencia la vibración correspondiente al estiramiento de los enlaces C=C de los alquenos cíclicos. Se observa una señal. A los 1420 cm^{-1} representativa de las flexiones de los ácidos carboxílicos, así como la señal representativa para las vibraciones OH de compuestos fenólicos en los 1318 cm^{-1} . A los 1037 y 781 cm^{-1} se destacan las bandas para los estiramientos C-O de los grupos esteres y de algunos compuestos aromáticos respectivamente (Louati et al., 2018) (de Campo et al., 2018).

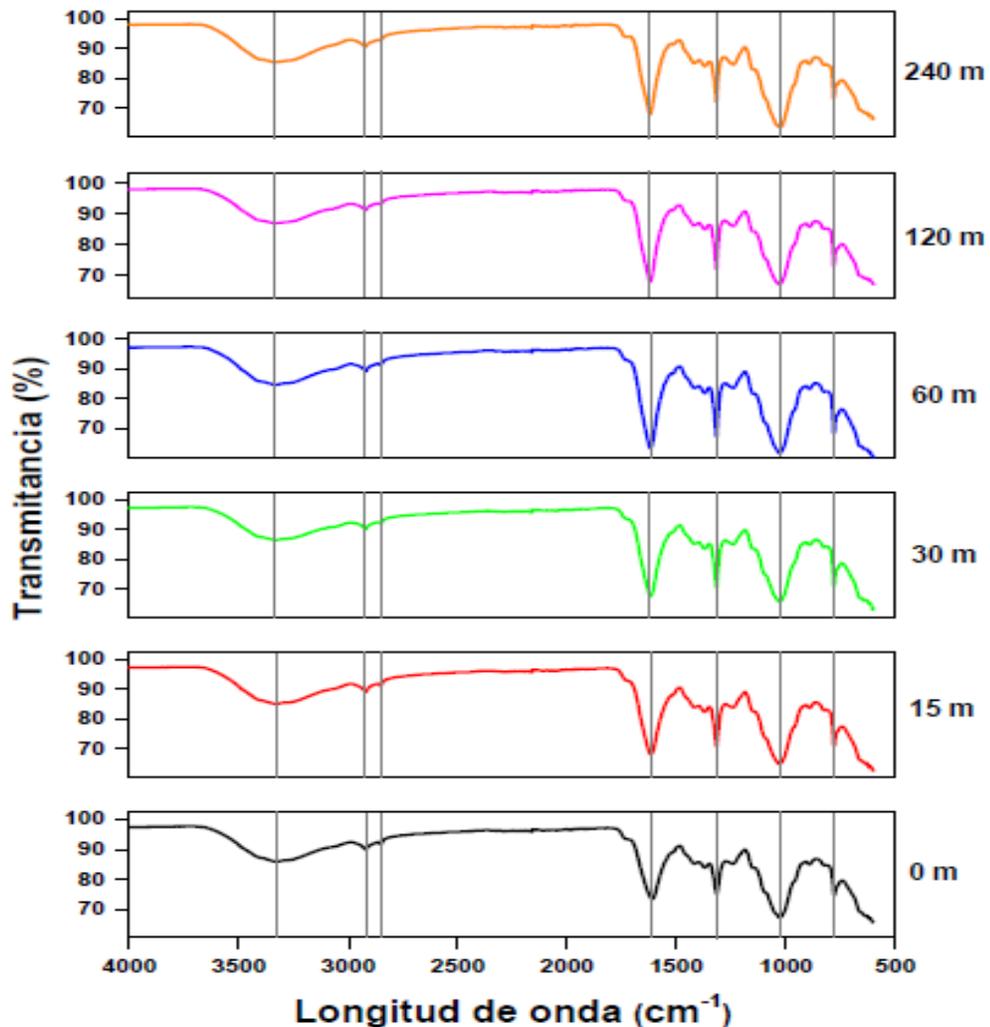


FIGURA 10. Espectros de FTIR para los diferentes tiempos de molienda.

El análisis de FTIR confirmó que la composición de las muestras a los diferentes tiempos de molienda no se modificó debido al proceso, ya que se presentaron las mismas bandas de absorción características de los componentes en todas las muestras.

7.7 Análisis de digestibilidad: Actividad de la α -Amilasa.

Para los ensayos de la actividad de α -amilasa se realizó un análisis de varianza ($p \leq 0.05$), en la Figura 11 se puede apreciar que las concentraciones de α -Amilasa que presentaron mayor actividad fueron las correspondientes a los valores de 0.7 y 1 Unidades α -Amilasa, las cuales no presentaron diferencias significativas entre ellas. La concentración que se

escogió fue la 1 Unidad α -Amilasa, ya que presenta una actividad de la enzima ligeramente mayor.

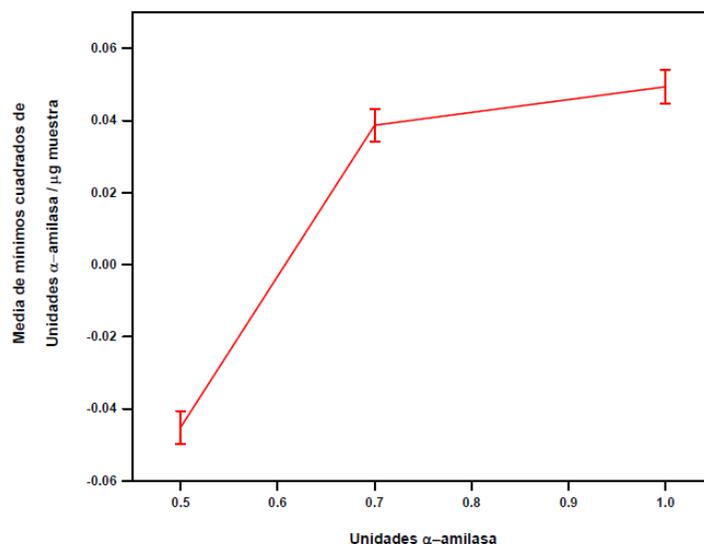


Figura 11. Análisis de medias de la actividad de la α -amilasa

En la Figura 12 se observa la gráfica de la actividad de la α -Amilasa sobre las muestras a los diferentes tiempos de molienda. Los resultados que se obtuvieron mostraron que la actividad de la α -Amilasa se incrementa conforme aumenta el tiempo de molienda, teniendo una actividad máxima de la enzima para las muestras con tiempo de molienda de 240 min. Cabe mencionar que de acuerdo con el análisis de tamaño de partícula a partir de 120 min de molienda se tuvo un incremento en el tamaño de partícula (187 nm), debido a la formación de aglomerados, lo cual no significa que el tamaño de las partículas sea ese, sino que se han formado aglomerados de un número indeterminado de partículas menores a ese tamaño. A pesar de la formación de los aglomerados, la acción de la enzima sobre las partículas individuales fue incrementando al aumentar el tiempo de molienda, ya que presumiblemente el tamaño de dichas partículas es menor a 107 nm, el cual corresponde al tiempo de molienda de 60 min. Estos resultados nos muestran que al incrementar el tiempo de molienda, se redujo significativamente el tamaño de partícula; aunque dicho efecto no fue posible observarlo con las mediciones de tamaño de partícula debido a la formación de aglomerados. El análisis de actividad de la α -Amilasa nos permitió corroborar lo anterior, ya que como algunos trabajos reportan al

disminuir el tamaño de partícula la actividad de la α -Amilasa tiende a incrementarse tal como se presenta en los resultados de este trabajo (Socorro, Levy-Benshimol, & Tovar, 1989) (McCleary et al., 2002).

Los resultados de este estudio sugieren que el grado de digestibilidad de las muestras puede controlarse y predecirse en cierta medida en función del tamaño de partícula (McCleary et al., 2002).

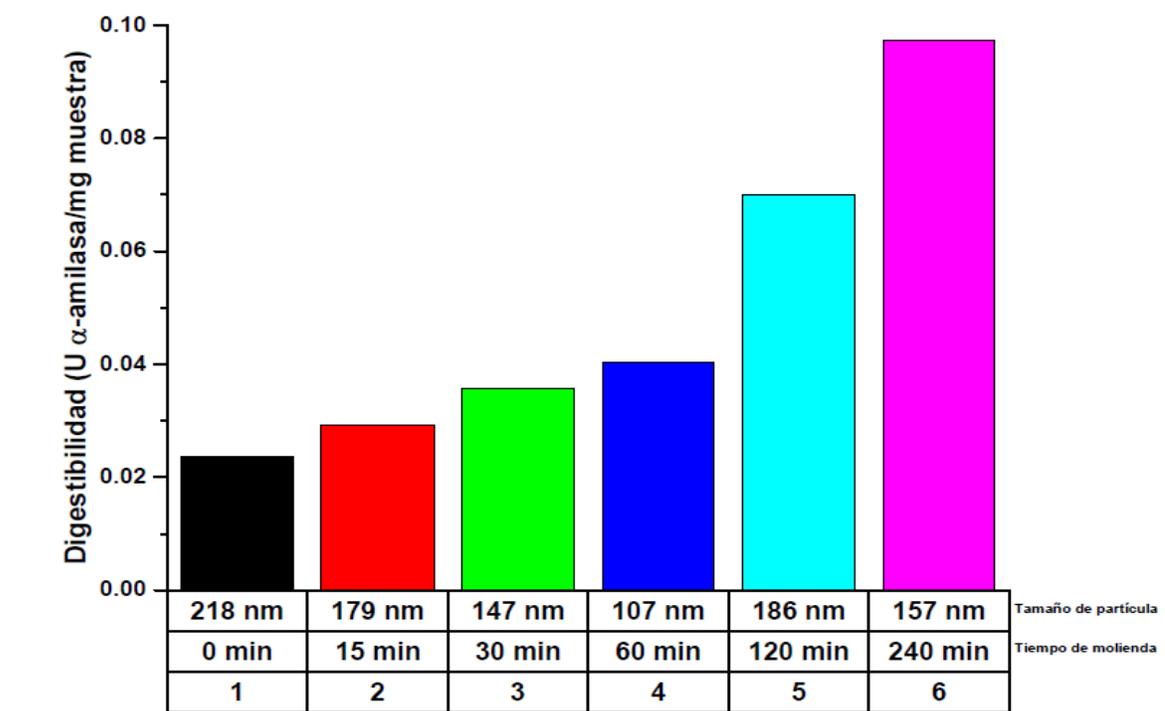


FIGURA 12. Pruebas de digestibilidad.

8. CONCLUSIONES

- El análisis bromatológico mostro que la harina de nopal adquirida tiene un bajo contenido de humedad (7.9%) y alto contenido de fibra (24.39%).
- La harina de nopal fue sometida a diferentes tiempos de molienda, obteniéndose cinco diferentes muestras. Las muestras a los diferentes tiempos de molienda presentaron coloraciones desde el verde oscuro para los tiempos de molienda cortos hasta el verde claro para los tiempos de molienda largos.
- Los tamaños de partícula de las muestras fueron disminuyendo conforme aumentaron los tiempos de molienda, a los 60 min de molienda se obtuvieron nanopartículas de 107 nm. Para los subsecuentes tratamientos de 120 y 240 min se presentó el fenómeno de aglomeración de partículas, por lo cual los tamaños de partícula fueron de 186 nm y 157 nm.
- Las fases presentes en las muestras fueron Oxalato de calcio, carbonato de calcio, celulosa y compuestos de carbono principalmente, los cuales fueron observados mediante los análisis de DRX.
- Los difractogramas de DRX permitieron observar que todas las muestras presentan una zona cristalina (oxalatos, carbonatos) y otra amorfa (celulosa y compuestos de carbono), además conforme aumentan los tiempos de molienda la zona amorfa de las muestras va disminuyendo, lo cual nos indica que las mismas se vuelven más cristalinas por el efecto de la molienda.
- El análisis de FRX cuantifico cualitativamente y cuantitativamente los micro y macronutrientes presentes en las muestras, no se encontró ninguna diferencia significativa después de los diferentes tiempos de molienda.
- El grado de contaminación con zirconia debida al proceso de molienda fue de un máximo 0.1% para el tratamiento de 240 min, el cual es un grado de contaminación bajo.
- El análisis de FTIR nos permitió corroborar que la composición de las muestras no cambio cuando fueron sometidas a los diferentes tiempos de molienda, además de que dichos resultados estuvieron en concordancia con los obtenidos mediante DRX y FRX.
- Las pruebas de digestibilidad con la enzima de α -amilasa mostraron que conforme aumentan los tiempos de molienda se tiene una mayor actividad de

dicha enzima, lo que se traduce en una mayor digestibilidad de las muestras conforme el tamaño de partícula tiende a disminuir.

- La aglomeración de las partículas no tuvo un efecto negativo en la digestibilidad de las mismas, obteniendo la mayor digestibilidad para las muestras con 240 min de molienda.

9. LITERATURA CITADA

- Aruwa, C. E., Amoo, S. O., & Kudanga, T. (2018). Opuntia (Cactaceae) plant compounds, biological activities and prospects – A comprehensive review. *Food Research International*, 112(February), 328–344. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.06.047>
- Bejuma, M., Carabobo, E., Naguanagua, M., & Carabobo, E. (2009). *Influencia de la Sustitución Parcial de Harina de Trigo con Harinas de Cladodios de Cactus (Opuntia boldinghii Britton & Rose) Integral e Hidrolizada Enzimáticamente como Fuente de Fibra en Postres Tipo Ponquecito Resumen*. 22, 63–71.
- Bilo, F., Lodolo, M., Borgese, L., Bosio, A., Benassi, L., Depero, L. E., & Bontempi, E. (2015). Evaluation of heavy metals contamination from environment to food matrix by TXRF: The case of rice and rice husk. *Journal of Chemistry*, 2015, 13. <https://doi.org/10.1155/2015/274340>
- Castillo, S., Estrada, L., Margalef, M., & Tófoli, S. (2013). Obtención de harina de nopal y formulación de alfajores de alto contenido en fibra. *Diaeta*, 31(142), 20–26.
- Cicata, Y. T. A., Juárez, T., Ruíz, R., Celzard, A., Fierro, V., & Diciembre, D. F. De. (2013). *Presenta*: Universidad Nacional de Mexico.
- Contreras-Padilla, M., Pérez-Torrero, E., Hernández-Urbiola, M. I., Hernández-Quevedo, G., del Real, A., Rivera-Muñoz, E. M., & Rodríguez-García, M. E. (2011). Evaluation of oxalates and calcium in nopal pads (*Opuntia ficus-indica* var. redonda) at different maturity stages. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(1), 38–43. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2010.03.028>
- de Campo, C., Dick, M., Pereira dos Santos, P., Haas Costa, T. M., Paese, K., Stanisçuaski Guterres, S., ... Hickmann Flôres, S. (2018). Zeaxanthin nanoencapsulation with *Opuntia monacantha* mucilage as structuring material: Characterization and stability evaluation under different temperatures. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 558, 410–421. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2018.09.009>
- Ejecutiva, D., Castillo, B., Editorial, C., Vega, L. W., Castillo, B., Ing, I., ... Direcci, F. F. (n.d.). Harina de Nopal (*Opuntia ficus*) aplicada en la Elaboracion de Productos de

- Panificación. *INNOVA BIOTEC*, 1(2226–2490), 62. Retrieved from innovabiotec@iibi.gov.do
- Gastronomía, E. D. E. (2016). *Trabajo de Titulación*. Escuela Superior Politecnica de Chimborazo, Escuela de Gastronomía.
- Group, I. T. (2019). *tamaño de partícula en muestras de harina , detectando incluso*. Retrieved from www.iristechnologygroup.com
- Herrera, Distrito Federal; Grueso; Jaramillo, S. (2005). El proceso de diseño de un molino vibro-planetario para la producción de materiales compuestos. *El Hombre y La Máquina*, (24), 144–157. Retrieved from maquina@uao.edu.co
- instituto de innovacion en biotecnologia e industria (IIBI). (2019). *HARINA Y DERIVADOS DEL NOPAL Fomento del consumo e industrialización para la soberanía alimentaria* (No. 809-566–8121). Retrieved from www.iibi.gov.do
- Kalavathi, V., & Kumar, R. (2019). Materials Today : Proceedings A detailed study on zirconium and its applications in manufacturing process with combinations of other metals , oxides and alloys – A review. *Materials Today: Proceedings*, (xxxx), 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2019.08.130>
- Krishna, S., & Patel, C. M. (2019). Preparation of coconut shell nanoparticles by wet-stirred media milling. *Materials Letters*, 257, 126738. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2019.126738>
- Louati, I., Fersi, M., Hadrich, B., Ghariani, B., Nasri, M., & Mechichi, T. (2018). Prickly pear cactus cladodes powder of *Opuntia ficus indica* as a cost effective biosorbent for dyes removal from aqueous solutions. *3 Biotech*, 8(11), 0. <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1499-1>
- Mannai, F., Elhleli, H., Ammar, M., Passas, R., Elaloui, E., & Moussaoui, Y. (2018). Green process for fibrous networks extraction from *Opuntia* (Cactaceae): Morphological design, thermal and mechanical studies. *Industrial Crops and Products*, 126(February), 347–356. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.10.033>
- Marin-Bustamante, M. Q., Chanona-Pérez, J. J., Güemes-Vera, N., Cásarez-Santiago, R., Pereaflora, M. J., Arzate-Vázquez, I., & Calderón-Domínguez, G. (2017).

Production and characterization of cellulose nanoparticles from nopal waste by means of high impact milling. *Procedia Engineering*, 200, 428–433. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2017.07.060>

McCleary, B. V., McNally, M., Monaghan, D., Mugford, D. C., Black, C., Broadbent, R., ... Themeier, H. (2002). Measurement of α -amylase activity in white wheat flour, milled malt, and microbial enzyme preparations, using the ceralpha assay: Collaborative study. *Journal of AOAC International*, 85(5), 1096–1102.

Pérez, F. X. P., Velasco, R. R., Contreras, L. M. M., Martínez, G. D. M., & Guerra, F. J. F. (2004). Efecto de la dosis de α Amilasa (*Bacillus Licheniformis*), Temperatura de Solución y Molido del Grano de Sorgo en la Aglutinación del Almidón y Digestibilidad Ruminal in Vitro. *Interciencia*, 29(12).

Ramezani Kakroodi, A., Panthapulakkal, S., Sain, M., & Asiri, A. (2015). Cellulose nanofibers from the skin of beavertail cactus, *Opuntia basilaris*, as reinforcements for polyvinyl alcohol. *Journal of Applied Polymer Science*, 132(36). <https://doi.org/10.1002/app.42499>

Roma, L. O. de las N. U. para la A. y la A. y el C. I. de I. A. en Z. A. (2018). *Ecología del cultivo, manejo y usos del nopal* (Davide Mor; C. Prof. Paolo Inglese, Università degli Studi di Palermo, Italia; Dr. Candelario Mondragon Jacobo, Investigador Docente. Universidad Autónoma de Querétaro Facultad de Ciencias Naturales. Querétaro, México Dr. Ali Nefzaoui, ICARDA, Túnez Dra. Carmen Sáenz, U, Ed.). Retrieved from copyright@fao.org

Romo, M. M., Estrada, G. T., Haro, I. M., Solís, I. C., & Cruz-Vázquez, C. (2006). Digestibilidad in situ de dietas con harina de nopal deshidratado conteniendo un preparado de enzimas fibrolíticas exógenas. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 41(7), 1173–1177. <https://doi.org/10.1590/s0100-204x2006000700014>

Sakhare, S. D., Inamdar, A. A., Soumya, C., Indrani, D., & Rao, G. V. (2014). Effect of flour particle size on microstructural, rheological and physico-sensory characteristics of bread and south Indian parotta. *Journal of Food Science and Technology*, 51(12), 4108–4113. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-0939-5>

Santiago-Lorenzo, M. del R., López-Jiménez, A., Saucedo-Veloz, C., Cortés-Flores, J. I.,

Jaén-Contreras, D., & Suárez-Espinosa, J. (2016). Composición nutrimental del nopal verdura producido con fertilización mineral y orgánica. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 39(4), 403–407.

Servicios, D. E., & Fao, D. E. L. A. (2006). Utilización agroindustrial del nopal. *Utilizacion Agroindustrial Del Nopal*, 1020–4334(carmen saenz, Horst Berger, Joel Corrales Garcia, Ljubica Galleti, Victor Garcia de Cortazar, Inocencio Higuera, Candelario Mondragon, Armida Rodriguez-Felix, Elena Sepulveda y Maria Teresa Varnero), 113.

Socorro, M., Levy-Benshimol, A., & Tovar, J. (1989). In vitro Digestibility of Cereal and Legume (*Phaseolus vulgaris*) Starches by Bovine, Porcine and Human Pancreatic α -Amylases Effect of Dietary Fiber. *Starch - Stärke*, 41(2), 69–71. <https://doi.org/10.1002/star.19890410208>

Tobal, C. (1986). *Evaluación de los alimentos a través de los diferentes métodos de digestibilidad*. (Church 1974), 94–126. Retrieved from <http://www.biblioteca.unlpam.edu.ar/pubpdf/anuavet/n1999a16tobal.pdf>

10. ANEXOS

Anexo 1. Análisis de FRX para cada muestra a los diferentes tiempos de molienda.

a) 0 min

Compound	Na	Mg	Al	Si	P	S	Cl	K	Ca	Sc	Ti	V	Cr
Conc	0.0	15.245	0.610	2.419	1.973	1.231	2.604	18.383	54.366	0.131	0.136	42.1	0.0
Unit	ppm	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	ppm	ppm

Compound	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Rb	Sr
Conc	0.131	1.522	0.022	41.7	0.034	0.065	6.7	0.0	5.6	1.4	0.011	0.029	0.930
Unit	%	%	%	ppm	%	%	ppm	ppm	ppm	ppm	%	%	%

Compound	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Cd	In	Sn	Sb	Te
Conc	65.1	0.0	16.5	21.4	0.0	0.2	0.0	1.7	9.4	0.0	0.013	71.1	0.014
Unit	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	%	ppm	%

Compound	I	Cs	Ba	Ce	Eu	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au
Conc	18.2	85.5	0.056	0.011	0.018	3.3	0.0	1.6	0.0	14.6	0.0	2.5	5.4
Unit	ppm	ppm	%	%	%	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm

Compound	Hg	Tl	Pb	Bi
Conc	11.8	1.0	29.9	8.1
Unit	ppm	ppm	ppm	ppm

b) 15 min

Compound	Na	Mg	Al	Si	P	S	Cl	K	Ca	Sc	Ti	V	Cr
Conc	0.0	14.209	0.560	2.544	1.839	1.106	2.390	16.906	57.172	0.149	0.164	37.6	9.1
Unit	ppm	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	ppm	ppm

Compound	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Rb	Sr
Conc	0.120	1.533	0.020	50.8	0.034	0.064	33.4	0.0	8.6	2.1	99.7	0.030	0.954
Unit	%	%	%	ppm	%	%	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	%	%

Compound	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Cd	In	Sn	Sb	Te
Conc	82.1	0.021	6.8	27.9	2.1	0.7	3.6	13.2	2.4	3.6	0.013	87.6	0.017
Unit	ppm	%	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	%	ppm	%

Compound	I	Cs	Ba	Ce	Eu	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au
Conc	0.010	0.015	0.061	86.2	75.4	0.5	15.2	0.0	0.0	4.6	0.0	0.0	4.4
Unit	%	%	%	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm

Compound	Hg	Tl	Pb	Bi
Conc	16.8	6.7	8.5	10.9
Unit	ppm	ppm	ppm	ppm

c) 30 min

Compound	Na	Mg	Al	Si	P	S	Cl	K	Ca	Sc	Ti	V	Cr
Conc	0.0	13.115	0.821	2.805	1.810	1.119	2.297	17.045	57.666	0.153	0.171	7.7	6.2
Unit	ppm	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	ppm	ppm

Compound	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Rb	Sr
Conc	0.121	1.657	0.026	56.0	0.033	0.061	5.1	0.0	8.8	1.5	97.5	0.029	0.893
Unit	%	%	%	ppm	%	%	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	%	%

Compound	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Cd	In	Sn	Sb	Te
Conc	83.2	0.015	17.0	30.4	3.4	1.0	5.8	0.0	0.0	6.6	0.013	68.4	0.015
Unit	ppm	%	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	%	ppm	%

Compound	I	Cs	Ba	Ce	Eu	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au
Conc	75.9	83.3	0.056	23.0	0.015	0.7	0.0	3.5	0.0	4.5	0.0	0.0	7.0
Unit	ppm	ppm	%	ppm	%	ppm							

Compound	Hg	Tl	Pb	Bi
Conc	12.0	1.4	12.1	10.8
Unit	ppm	ppm	ppm	ppm

d) 60 min

Compound	Na	Mg	Al	Si	P	S	Cl	K	Ca	Sc	Ti	V	Cr
Conc	0.0	13.892	0.695	2.851	1.802	1.112	2.435	16.778	57.248	0.162	0.169	59.7	0.0
Unit	ppm	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	ppm	ppm

Compound	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Rb	Sr
Conc	0.127	1.603	0.022	39.0	0.032	0.060	8.1	0.0	5.4	1.4	91.6	0.026	0.820
Unit	%	%	%	ppm	%	%	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	%	%

Compound	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Cd	In	Sn	Sb	Te
Conc	71.4	0.016	10.3	28.9	4.3	2.9	0.4	3.9	9.9	0.0	0.010	48.2	0.013
Unit	ppm	%	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	%	ppm	%

Compound	I	Cs	Ba	Ce	Nd	Sm	Eu	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir
Conc	63.3	55.3	0.048	0.013	0.0	0.0	0.011	0.0	0.0	0.0	0.0	5.2	0.0
Unit	ppm	ppm	%	%	ppm	ppm	%	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm

Compound	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi
Conc	1.4	0.1	6.4	2.0	17.5	2.9
Unit	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm

e) 120 min

Compound	Na	Mg	Al	Si	P	S	Cl	K	Ca	Sc	Ti	V	Cr
Conc	0.0	13.249	0.613	3.013	1.790	1.106	2.469	17.010	57.338	0.159	0.181	34.8	2.7
Unit	ppm	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	ppm	ppm

Compound	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Rb	Sr
Conc	0.128	1.696	0.019	47.5	0.033	0.058	26.8	0.0	5.4	1.5	95.6	0.028	0.871
Unit	%	%	%	ppm	%	%	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	%	%

Compound	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Cd	In	Sn	Sb	Te
Conc	0.013	0.073	2.6	23.1	2.1	3.1	0.0	0.0	2.1	4.4	0.012	61.7	0.015
Unit	%	%	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	%	ppm	%

Compound	I	Cs	Ba	Ce	Nd	Eu	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt
Conc	83.7	0.011	0.050	0.012	0.0	56.9	28.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Unit	ppm	%	%	%	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm

Compound	Au	Hg	Tl	Pb	Bi
Conc	6.6	2.9	4.6	17.4	15.1
Unit	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm

f) 240 min

Compound	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Rb	Sr
Conc	0.122	1.755	0.019	25.6	0.033	0.064	3.3	0.0	4.3	1.3	98.4	0.030	0.946
Unit	%	%	%	ppm	%	%	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	%	%

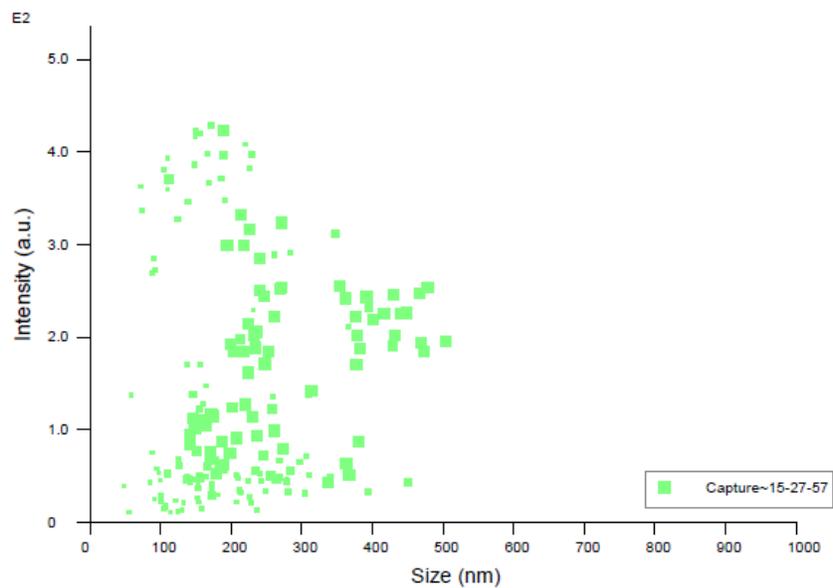
Compound	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Cd	In	Sn	Sb	Te
Conc	0.015	0.100	3.7	26.2	2.4	4.3	5.7	15.8	0.0	0.0	0.013	90.7	0.016
Unit	%	%	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	%	ppm	%

Compound	I	Cs	Ba	Ce	Nd	Eu	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt
Conc	84.4	0.012	0.068	88.6	0.0	0.012	34.8	0.0	5.8	0.0	15.1	0.0	0.0
Unit	ppm	%	%	ppm	ppm	%	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm

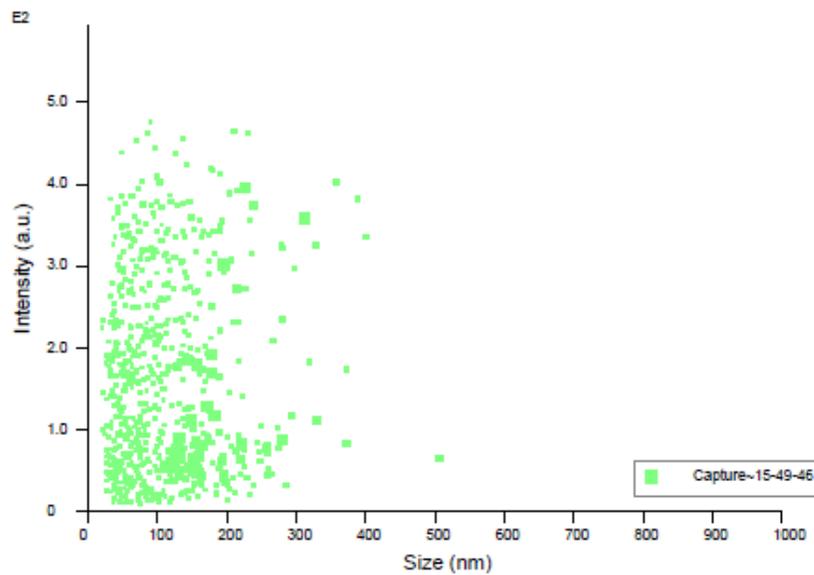
Compound	Au	Hg	Tl	Pb	Bi
Conc	5.4	6.5	0.0	10.8	5.9
Unit	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm

Anexo 2. Distribución de tamaño de partícula de las muestras a los distintos tiempos de molienda

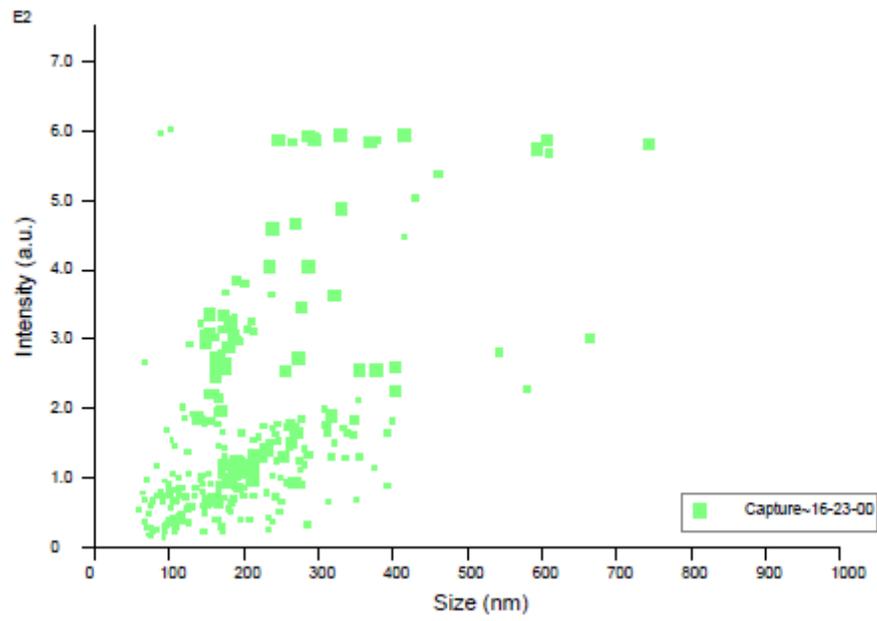
a) 0 min



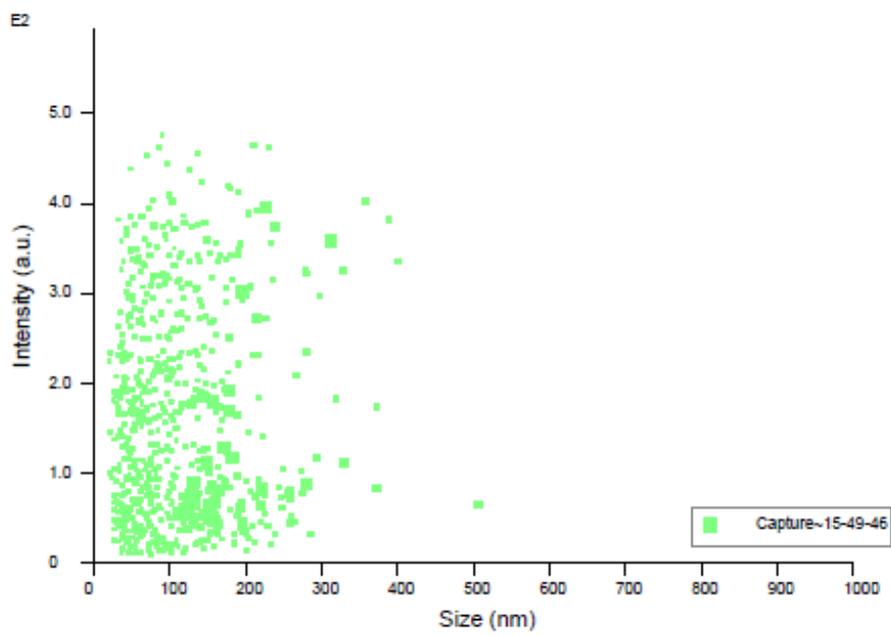
b) 15 min



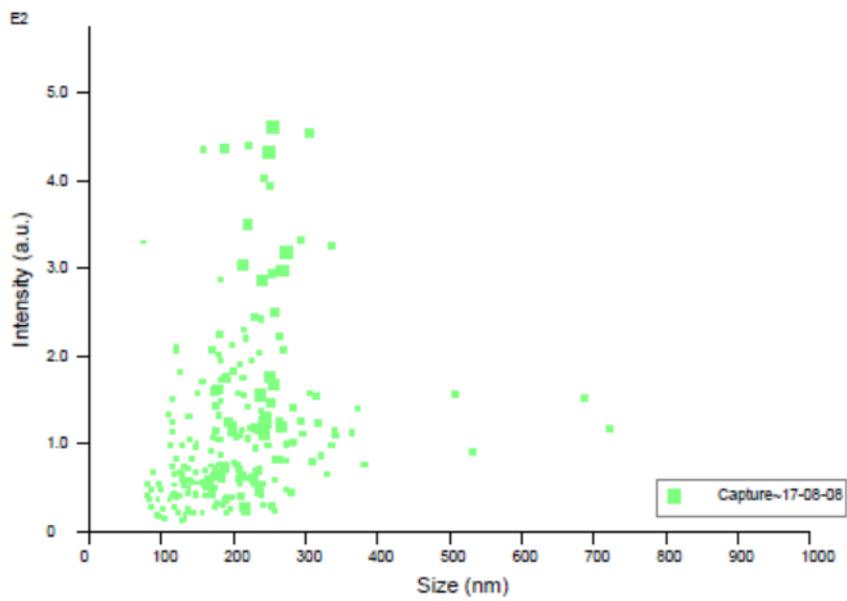
c) 30 min



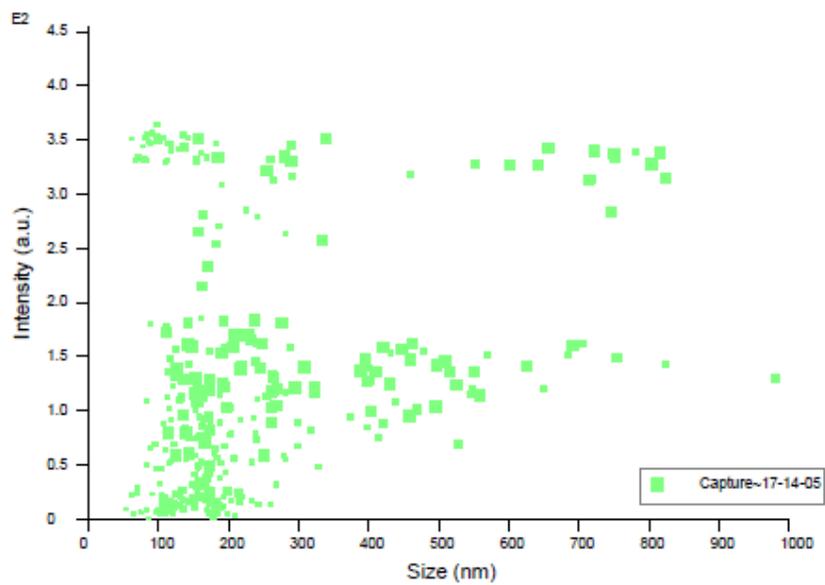
d) 60 min



e) 120 min



f) 240 min



Anexo 3. Preparación de soluciones para análisis de digestibilidad.

1. Solución buffer: Se preparó una solución buffer A (13.8 g de Sodio fosfato monobásico disuelto en 500 ml de agua desionizada) y una solución buffer B (26.82 g de Sodio fosfato di básico disuelto en 500 ml de agua desionizada. Se mezclan ambas soluciones obteniendo 1 L de solución buffer.
2. Solución madre: Se mezcló en un matraz 100 ml de solución buffer y 1 g de muestra, llevándose a agitación por 15 min.
3. Solución de Hidróxido de sodio (NaOH): Se pesó 8 g de hidróxido de sodio y se mezcló en 100 ml de agua desionizada, llevándose a agitación hasta disolver completamente.
4. Solución de Tartrato de sodio y potasio: Se pesó 0.1496 g tartrato de sodio y potasio tetrahidratado y se mezcló en 100 ml de agua desionizada, enseguida se mezcló con la solución de NaOH y se llevó a calentamiento cuidando que la mezcla no llegara al punto de ebullición.
5. Solución *Acido* 3,5-Dinitrosalicílico (DNS): Se pesaron 2.19 g de DNS y se disolvieron en 100 ml de agua, calentándose para llevar a cabo la disolución de los cristales de DNS. Se cuidó de que la solución no llegara a ebullición.
6. Solución DNS final: Para preparar 40 mL de solución se mezclaron 12 mL de agua (50 - 70 °C), 8 ml de solución de tartrato de sodio y potasio (50 - 70 °C) y 20 mL de solución de DNS (50 - 70 °C). Finalmente se mezclaron suavemente y se colocaron en una botella ámbar para protegerlas de la luz.
7. Solución de Glucosa: Se mezclaron 0.2 g de glucosa y se disolvieron en 100 ml de agua desionizada.
8. Solución de α -Amilasa: Se mezclaron 0.01 gr de α -Amilasa con 100 mL de agua desionizada y se mantuvieron a 20 °C.

Anexo 4. Preparación de curva estándar de glucosa

1. Se preparan muestras de acuerdo con las cantidades expresadas en la Tabla 14.

TABLA 14. Preparación de muestras para curva estándar de glucosa.

Solución	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Tubo 5	Tubo 6	Tubo 7	Blanco
0.2% glucosa estándar	0.05	0.20	0.40	0.60	0.80	1.00	2.00	-
Agua desionizada	1.95	1.80	1.60	1.40	1.20	1.00	-	2.00
Solución DNS final	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

2. Las muestras se tapan y se llevan a ebullición a baño maría por exactamente 15 min.
3. Al finalizar los 15 min se sacan las muestras y se colocan en hielo hasta que alcanzar la temperatura ambiente
4. Finalmente se agregan 9 ml de agua desionizada a todas las muestras y registran las lecturas en el espectrofotómetro a 540 nm.
5. Determinar la ΔA_{540} para cada estándar contra el estándar blanco.

$$\Delta A_{540}(\text{estándar}) = A_{540}(\text{estándar}) - A_{540}(\text{estándar blanco})$$

6. Preparar la curva de calibración graficando ΔA_{540} contra los μg de glucosa usando una regresión lineal.

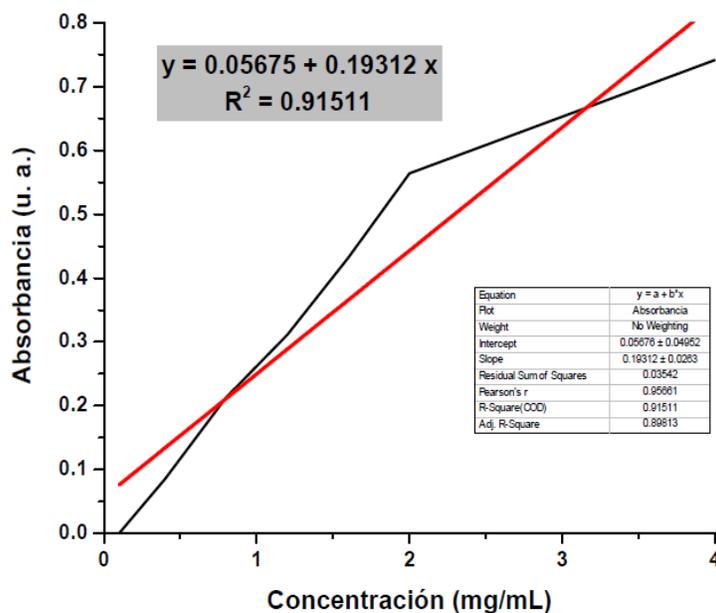


FIGURA 13. Curva de calibración de glucosa.