



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
MAESTRÍA EN NUTRICIÓN HUMANA**

**Identificación de compuestos de calcio en cladodios de
nopal (*Opuntia ficus indica*)**

TESIS

QUE COMO PARTE DE LOS REQUISITOS PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRÍA EN NUTRICIÓN HUMANA

PRESENTA

I.A. LILENI GUTIÉRREZ AGUILAR

Directora:

DRA. ELSA GUTIÉRREZ CORTEZ

Co. Directora:

DRA. JUANA ISELA ROJAS MOLINA

CENTRO UNIVERSITARIO
QUERÉTARO, QRO. MÉXICO
Diciembre, 2012

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
MAESTRÍA EN NUTRICIÓN HUMANA**

**Identificación de compuestos de calcio en cladodios de
nopal (*Opuntia ficus indica*)**

TESIS

**QUE COMO PARTE DE LOS REQUISITOS PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN NUTRICIÓN HUMANA**

Presenta

I.A. Lileni Gutiérrez Aguilar

Dirigido por:

Dra. Elsa Gutiérrez Cortez

Co.Directora

Dra. Juana Isela Rojas Molina

SINODALES

Dra. Elsa Gutiérrez Cortez
Presidente

Dra. Juana Isela Rojas Molina
Secretario

Dra. Miriam Aracely Anaya Loyola
Vocal

Dra. Margarita Teresa de Jesús García Gasca
Suplente

Dr. Jorge Luis Rosado Loria
Suplente

Dra. Margarita Teresa de J. García Gasca
Directora de la Facultad de
Ciencias Naturales

Dr. Irineo Torres Pacheco
Director de Investigación y Posgrado



El presente trabajo se realizó en el Posgrado en Ingeniería de la Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ). En el laboratorio de Bromatología de la Facultad de Ciencias Naturales (UAQ). En el laboratorio de Fisicoquímica de Alimentos, Microscopia electrónica y en el laboratorio de Rayos X del Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada (UNAM), Campus Juriquilla. En el Laboratorio Experimental Multidisciplinario de Alimentos y en los Laboratorios de la Unidad Multidisciplinaria de la Facultad de Estudios Superiores-Cuautitlán (UNAM). En el laboratorio de Absorción Atómica del Instituto de Geografía (UNAM).



DEDICATORIAS

A Dios, por darme la vida y permitirme disfrutar de la vida que realmente lo es, así como por el poder terminar este objetivo en compañía de mi familia y amigos.

A mi hijo Lucca, quien es mi mayor motivación para continuar adelante, ha sido la mayor bendición que me ha dado Dios. Ser madre es lo mejor que me ha pasado. Te amo moshoo.

A mi esposo Uriel, por apoyarme y compartir todo este tiempo juntos tanto en las buenas como en las malas, momentos de felicidad y de crisis, todo ha sido un gran aprendizaje que nos ha hecho crecer como personas y como pareja, gracias por el pequeño Lucca. Te amo.

A mis padres Roció y Luis, gracias por haberme dado la vida y por el apoyo que siempre me han dado, aun cuando no han estado de acuerdo en muchas decisiones que he tomado muchas gracias, y ahora que soy madre comprendo muchas cosas. Los amo.

A mis hermanos Elihú, Osmar, Anahí y Sebastián muchas gracias por apoyarme siempre y perdón si los molesto mucho pero saben que los quiero mucho. Siempre estaré para ayudarlos y apoyarlos en lo que necesiten.

A mis abuelos Emilia y Raúl, muchas gracias por todo lo que me han enseñado su compromiso y su entrega son un gran ejemplo para mí. Gracias por su amor y consejos que siempre me han dado.

A mi abuela Gloria, por ser una mujer muy trabajadora y valiente, la cual saco a sus hijos adelante. Eres especial, pero te quiero mucho.

A mi tía Elsa, muchas gracias por escucharme, por el apoyo y sobre todo por los consejos que me das, eres una mujer muy inteligente, independientemente de la asesoría de la tesis eres una gran amiga, te quiero tía!!

A toda mi familia en general, muchas gracias por el apoyo.

A mi mejor amiga Sandy que siempre ha estado conmigo, muchas gracias por escucharme y por soportarme, te quiero mucho y espero seguir compartiendo muchos años más contigo y con el buen Serjob. Los dos han sido como mis hermanos mayores, los quiero mucho. Gracias por las desveladas juntas, por lo viajes, por todo, en realidad han sido tantas cosas que solo espero seguir cultivando tu amistad por mucho tiempo más.

A mi amiga, Ofe muchas gracias por compartir esta faceta de nuestra vida con San y conmigo, gracias por el apoyo que nos diste, te queremos mucho.



A mi buena amiga Pueblito, muchas gracias por tus consejos y las terapias que nos dabas todos los viernes, gracias por ayudarnos y apoyarnos

A mis profesores de la maestría, gracias por transmitirme sus conocimientos, gracias por el tiempo y la disposición que mostraron.



AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Elsa Gutiérrez Cortez por su dedicación y conocimientos para la dirección de este trabajo de investigación, es una investigadora con mucha pasión y entrega, es una gran formadora de investigadores. Muchas gracias.

A la Dra. J. Isela Rojas Molina muchas gracias por sus consejos y observaciones para la realización de este trabajo de investigación. Es una persona muy comprometida con lo que hace.

A la Dra. Teresa Garcia Gasca, gracias por sus aportaciones y por el apoyo para la realización de este trabajo. Gracias por la disponibilidad para las revisiones y consultas no solo para este trabajo sino durante toda la maestria.

A la Dra. Araceli Anaya, muchas gracias por los comentarios, aportaciones y por la revisión de este trabajo de investigación, por las enseñanzas y conocimientos transmitidos durante todo este tiempo.

Al Dr. Jorge Rosado, Gracias por transmitirme un poco de todos sus conocimientos, gracias por la revisión y comentarios aportados para enriquecer esta investigación.

A la I.Q. Flora Lázaro Torres por el soporte de la técnica de carbonatos de calcio, por el uso de sus instalaciones, por su ayuda en los cálculos e interpretación de los resultados.

A la M en I. Q. Alicia del Real López por su valiosa ayuda en la toma de micrografías de las fracciones de nopal y en la invaluable interpretación de las mismas.

Al Dr. Erick M. Rivera Muñoz del departamento de nanotecnología del Centro de Física Aplica y Tecnología Avanzada Campus de Juriquilla UNAM por su ayuda en la toma de difractogramas y por su interpretación.



A la técnica Académica Maestra en Ciencias Carolina Muñoz del centro de Geociencias Campus de Juriquilla UNAM por la ayuda en la determinación de concentración de calcio total, así como por facilitarnos sus instalaciones.



El presente trabajo fue financiado por el proyecto CONACYT 167769 con título
“POTENCIAL DE LOS COMPUESTOS DE CALCIO PRESENTES EN LOS
CLADODIOS DE NOPAL (*Opuntia ficus indica*) PARA REDUCIR LA PÉRDIDA
DE MASA ÓSEA”



El presente trabajo fue financiado por el proyecto PAPIIT: IT231511-3 Nanopartículas en recubrimientos comestibles para la conservación de frutas frescas cortadas de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la UNAM.



RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue identificar y caracterizar los compuestos de calcio presentes en las diferentes fracciones de nopal, fracción insoluble y fracción soluble. La variedad utilizada fue *Opuntia ficus indica* de 100 días de maduración y de peso aproximado de 400 g. Los nopales fueron cortados en piezas con tamaño de 2x2 cm para deshidratarse a 70 °C en una estufa Marca BG-Didacta Italia, modelo E102. Después se molieron en un PULVEX 200. El Análisis Químico proximal se realizó al nopal deshidratado con las metodologías de la AOAC, 2000. Con los sólidos granulados de nopal se prepararon suspensiones al 4%. Estas fueron centrifugadas para separar su fracción soluble e insoluble, manejando diferentes condiciones de operación en una centrifuga de discos, con velocidades de giro de 7000, 7500 y 8000 rpm, velocidades de alimentación de 200, 400 y 600 mL/ min. y con alturas de tornillo de gravedad de 0, 2 y 4 mm. Los factores de respuesta utilizadas para evaluar la calidad de la fracción soluble fueron: sólidos totales, densidad, color, turbidez, volumen recolectado. Se aplicó a los datos un factorial 3^3 con tres factores y tres niveles para conocer cuál de ellos tiene mayor influencia. Posteriormente, a la fracción soluble se le adicionó etanol con una relación 1:2 para precipitar el mucílago. La caracterización morfológica de las sales presentes en las fracciones soluble, insoluble y en la suspensión de nopal se realizó por un microscopio electrónico de barrido (JEOL, modelo JSU-5600). La concentración de las sales de calcio se realizó por espectroscopia de absorción atómica para cada fracción y la cuantificación de carbonato de calcio mediante técnicas volumétricas. Las condiciones óptimas de extracción de mucílago fueron: velocidad de alimentación 200 mL/ min, velocidad de giro 8000 rpm, altura de los tornillos de gravedad 0 mm. Con un rendimiento de 15.05 mg/g mayor que el de nopal en fresco. Las micrografías y difractogramas de Rayos X identificaron oxalatos de calcio en nopal y en la fracción insoluble, mientras que en la fracción soluble únicamente se encontraron carbonatos de calcio.

Palabras clave: Calcio, carbonatos, centrifugación, mucílago, nopal, oxalatos.



SUMMARY

The aim of this study was to identify and characterize the compounds of calcium present in the different fractions of nopal, insoluble fraction and soluble fraction. The variety used was *Opuntia ficus indica* of 100 days of ripening and weighing approximately 400 g. Nopals were cut into pieces of 2x2 cm size dehydrated at 70 ° C in an oven Brand BG-Didacta Italy, Model E102. After ground in a PULVEX 200. The proximate analysis was performed to dehydrated nopal methodologies AOAC, 2000. With nopal granulated solids suspensions were prepared at 4%. These were centrifuged to separate the soluble and insoluble fraction, managing different operating conditions in a disk centrifuge, with speeds of 7000, 7500 and 8000 rpm, feed rates of 200, 400 and 600 mL / min. and screw gravity heights of 0, 2 and 4 mm. Response factors used to evaluate the quality of the soluble fraction were: total solids, density, color, turbidity, volume collected. Was applied to the data a 3³ factorial with three factors and three levels to see which one has more influence. Subsequently, the soluble fraction was added ethanol in a ratio of 1:2 to precipitate the mucilage. Morphological characterization of the salts present in the soluble fraction, insoluble and nopal suspension was by scanning electron microscope (JEOL, JSU-5600 model). The concentration of the calcium salts is performed by atomic absorption spectroscopy for each fraction and the quantification of calcium carbonate volumetric techniques. Optimum conditions for removal of mucilage were: feed rate 200 mL / min, 8000 rpm speed, height of 0 mm screws gravity. The yield was 15.5 mg / g higher than in fresh cactus. The micrographs and X-ray diffractograms identified calcium oxalates in the nopal and in the insoluble fraction, while the soluble fraction was found only calcium carbonates.

Key Words: *Calcium, carbonates, centrifugation, mucilage, nopal, oxalates.*



ÍNDICE

	Página
Dedicatorias.	i
Agradecimientos.	iii
Resumen.	vii
Summary.	viii
Índice.	ix
Índice de Cuadros.	xii
Índice de Figuras.	xiii
I. Introducción.	1
II. Antecedentes.	4
2.1 El nopal.	4
2.2 Taxonomía del nopal.	5
2.3 Estado geográfico actual del nopal.	6
2.4 Estructura del nopal.	8
2.5 Valor nutritivo.	10
2.6 Fracciones del nopal.	12
2.7 Importancia del proceso de extracción de la fracción soluble.	14
2.8 Sales de calcio.	17
III. Justificación.	23
IV. Hipótesis.	25
V. Objetivos.	26
VI. Metodología Experimental.	27
6.1 Desarrollo Experimental.	27
6.2 Recolección de cladodios de nopal.	28
6.3 Caracterización física de la materia prima.	29
6.4 Limpieza y desespinado de los nopales.	30
6.5 Secado de nopal a 70°C.	31
6.6 Molienda de nopal.	32
6.7 Determinación de concentración de humedad en nopal fresco.	33
6.8 Preparación de suspensión con nopal deshidratado.	34
6.9 Centrifugación de suspensiones de nopal a diferentes condiciones.	36



6.10 Análisis estadístico.	46
6.11 Identificación de sales de calcio en las diferentes fracciones obtenidas: Concentrado de nopal, fracción insoluble y fracción soluble (mucílago).	48
6.12 Difracción de rayos X (DRX) identificación de sales de calcio y microestructura de las fracciones de nopal.	50
6.13 Espectroscopia infrarroja (IR) para identificar sales de calcio de las fracciones de nopal.	51
6.14 Espectroscopia de absorción atómica (EAA) para determinar la concentración de calcio en las fracciones de nopal.	53
6.15 Técnica volumétrica y colorimétrica para determinar la concentración de carbonato de calcio en las muestras en las fracciones de nopal.	55
VII. Resultados y Discusión.	59
7.1 Recolección de cladodios de nopal.	59
7.2 Caracterización física de la materia prima.	60
7.3 Limpieza y desespinado de los nopales.	61
7.4 Secado de nopal con temperatura de 70 °C.	61
7.5 Molienda de nopal con diferente edad de maduración.	61
7.6 Resultados de concentración de humedad en nopal fresco.	62
7.7 Resultados de suspensión de nopal deshidratado.	62
7.8 Centrifugación de suspensiones de nopal a diferentes condiciones.	62
7.9 Análisis estadístico.	70
7.10 Resultados de la identificación de sales de calcio y su morfología por microscopia electrónica de barrido (SEM-AV).	82
7.11 Resultados de la identificación de sales de calcio y su microestructura por difracción de rayos (DRX).	86
7.12 Espectroscopia infrarroja (IR) para identificar sales de calcio de las fracciones de nopal.	89
7.13 Espectroscopia de absorción atómica (EAA) para determinar la concentración de calcio en las fracciones de nopal de peso de 400 gramos de edad de 100 días.	90



7.14 Técnica volumétrica y colorimétrica para determinar la concentración de carbonato de calcio en las muestras en las fracciones de nopal.	91
VIII. Conclusiones.	93
IX. Referencias bibliográficas.	95



ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
Cuadro 1	Descripción botánica del nopal.	5
Cuadro 2	Análisis químico proximal de nopal en base seca y fresca.	11
Cuadro 3	Importantes características de las fuentes de calcio comúnmente utilizadas en la industria.	19
Cuadro 4	Factores independientes y sus niveles de variación trabajados.	35
Cuadro 5	Factores dependientes para evaluar rendimiento y eficiencia.	36
Cuadro 6	Resumen de factores del diseño factorial.	46
Cuadro 7	Variables y niveles para la centrifugación.	47
Cuadro 8	Peso y dimensiones de los cladodios de 100 días (400g).	60
Cuadro 9	Diseño factorial.	70
Cuadro 10	Condiciones óptimas de proceso para un diseño de superficie de respuesta.	78
Cuadro 11	Optimización de respuesta múltiple.	78
Cuadro 12	Valores óptimos individuales y múltiples para las variables de respuesta.	79
Cuadro 13	Comparación de óptimos con datos experimentales.	80



INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
Figura 1	Distribución geográfica de la producción de nopal en la república Mexicana.	6
Figura 2	Gráfica de producción nacional de nopal.	7
Figura 3	Composición anatómica de cladodios de nopal <i>Opuntia ficus indica</i> , 3 a) parte externa (colénquima); 3 b) parte interna (parénquima).	8
Figura 4	Idioblastos de nopal (células mucilaginosas).	9
Figura 5	Oxalatos de calcio presentes en el nopal.	20
Figura 6	Cuadro de actividades del desarrollo experimental	28
Figura 7	Rancho los Lores.	29
Figura 8	Nopales cortados de peso de 400 g.	30
Figura 9	Retiro de corona y desespinado de nopales.	31
Figura 10	Deshidratado de nopal en estufa.	32
Figura 11	Nopal deshidratado con 100 días de maduración.	33
Figura 12	Centrifuga de discos. a) Centrifugación de suspensión de nopal. b) fracción soluble.	37
Figura 13	Fracción insoluble de nopal dentro del tazón de la centrifuga.	38
Figura 14	Separación de la fracción soluble. a) Probeta vacía; b) Volumen de la fracción soluble.	39
Figura 15	a) Probetas a peso constante; b) Llenado de probetas; c) Peso de probetas llenas.	40
Figura 16	a) Prueba de turbidez; b) Muestras de mucílago obtenido a diferentes condiciones; c) Lectura de muestras	41



Figura 17	Charolas con muestra de clarificado o fracción soluble.	42
Figura 18	a) Colorímetro Minolta; b) Sensor; c) Fracción soluble.	43
Figura 19	a) Fracción soluble obtenida a 7000 rpm; b) Fracción soluble obtenida 7500 rpm; c) Fracción soluble obtenida a 8000 rpm.	44
Figura 20	Filtración del mucílago de nopal.	45
Figura 21	Montaje para observar la morfología de las fracciones de nopal; a) Portamuestras de bronce; b) Portamuestras con muestra pegada; c) Baño de oro a las muestras; d) Portamuestras en el carro en el interior del microscopio; e) microscopio electrónico; f) captura de las micrografías en la computadora.	49
Figura 22	Montaje para difracción de rayos X; a) Nopal deshidratado; b) Fracción soluble e insoluble de nopal deshidratado; c) Portamuestras de difractómetro; d) Difractómetro de rayos X.	51
Figura 23	Montaje para lectura en infrarrojo; a) Morteros de ágata con KBr; b) Mortero con KBr y muestra; c) portamuestra; d) manómetro; e) Película o pastilla; f) Equipo de infrarrojo marca Bruker.	52
Figura 24	Montaje para determinación de calcio por espectroscopia de absorción atómica; a) Muestras de nopal, fracción insoluble y mucílago; b) Balanza analítica; c) carrusel con muestras en el digestor; d) Filtración aforo y adición de oxido de lantano; e) Espectrofotómetro de absorción atómica.	54



Figura 25	Montaje para determinación de carbonato de calcio por técnica colorimétrica; a) Reactivos utilizados (biftalato de potasio); b) Preparación de una solución de NaOH; c) Calcinación de las muestras de nopal deshidratado, fracción insoluble y mucílago; d) Adición de gotas de etanol; e) adición de lenta de la solución titulante de NaOH 0.1 M con agitación constante;f) vire de la solución incolora a rosa.	58
Figura 26	Nopales cortados y trasladados en cajas de peso de 400 g.	60
Figura 27	Gráfica de secado de nopales de 400 g.	61
Figura 28	Volumen de fracción soluble obtenido a diferentes condiciones.	63
Figura 29	Tiempo de residencia en la centrifuga de discos en la separación de la fracción soluble e insoluble.	64
Figura 30	Densidad de las fracciones solubles.	65
Figura 31	Turbidez de las diferentes fracciones solubles obtenidas a distintas condiciones de proceso.	66
Figura 32	Sólidos totales presentes en las fracciones solubles obtenidas a distintas condiciones de proceso.	67
Figura 33	Luminosidad de las fracciones solubles obtenidas a distintas condiciones de proceso.	68
Figura 34	Rendimiento en mucílago obtenido de las fracciones solubles.	69
Figura 35	Diagrama de efectos principales sobre la variable de respuesta volumen de clarificado.	71
Figura 36	Diagrama de efectos principales sobre la variable de respuesta Color (L).	72
Figura 37	Diagrama de efectos principales sobre la variable de respuesta densidad.	73
Figura 38	Diagrama de efectos principales sobre la variable de respuesta turbidez.	74



Figura 39	Diagrama de efectos principales sobre la variable de respuesta sólidos totales.	75
Figura 40	Diagrama de efectos principales sobre la variable de respuesta rendimiento.	76
Figura 41	Diagrama de efectos principales sobre la variable de respuesta tiempo de residencia.	77
Figura 42	Sales de calcio patrones; a) Carbonato de calcio; b) citrato de calcio.	82
Figura 43	Sal de oxalato de calcio identificada en nopal de 100 días.	83
Figura 44	Micrografía de nopal; a) muestra de suspensión de nopal con células buliformes y oxalatos a 500x; b) sales de oxalato de calcio 500x; c) sales de carbonato de calcio 3500X.	84
Figura 45	Micrografías correspondientes a la fracción insoluble de nopal. a) Micrografía de oxalatos y fibra insoluble a 1000 aumentos. b) Micrografía de oxalatos y células buliformes fracción insoluble a 500 aumentos.	85
Figura 46	Micrografías tomadas a la fracción soluble de nopal. a) Carbonatos de calcio y células buliformes con mucílago a 3000 aumentos; b) Mucílago de nopal.	86
Figura 47	Difractogramas de sales patón de calcio Carbonato de calcio (Ca), Citrato de calcio (Ci) y Oxalato de calcio (Ox), Suspensión de nopal (S.N), Fracción insoluble de nopal (F.I.), Fracción soluble (F.S), y mucílago de nopal (MUS).	87
Figura 48	Difractogramas de mucílago deshidratado, mucílago fresco, calcinado a 200 °C, calcinado a 300 °C y calcinado de 400 °C.	88
Figura 49	Fracciones de nopal evaluados por espectroscopia infrarroja.	88



-
- Figura 50 Se muestra la concentración de calcio en % (mg/kg) de la suspensión de nopal deshidratado, fracción insoluble, fracción soluble y mucílago de peso de 400 g (100 días de maduración). 91
- Figura 51 Se muestra la concentración de carbonato de calcio en % (mg/kg) de la suspensión de nopal deshidratado, fracción insoluble, fracción soluble y mucílago de peso de 400 g (100 días de maduración). 92



I. INTRODUCCIÓN

México es el principal productor de nopal con un 90% de la producción mundial. Esta producción se divide básicamente en 3 clasificaciones, dependiendo del tamaño de éstos, los cuales son el nopal tipo verdura (676, 180.66 Ton.), el tipo tunero (378,697.94 Ton.) y el forrajero (130, 035.04 Ton.).

Los dos primeros son los que se utilizan como alimento y son los que forman parte de la dieta diaria. En lo que respecta al nopal forrajero, este comúnmente se utiliza como alimento para ganado, debido a que por su tamaño es el que se queda en las pencas, esto representa un importante desperdicio postcosecha (SAGARPA, 2011).

La cantidad de minerales que se localizan formando parte de los órganos y tejidos del nopal son el calcio, potasio, así como magnesio, sílice, sodio y pequeñas cantidades de hierro, aluminio y manganeso, predominando en forma de carbonatos y en ocasiones como cloruros, sulfatos y pequeñas cantidades de fosfatos (Loubet, 2008).

Algunos estudios han demostrado que al incrementar el estado de maduración del nopal o cladodio, aumenta la concentración de calcio total en estos (Rodríguez et al., 2007; Contreras-Padilla et al., 2011). Entre las diferentes sales de calcio se encuentran los oxalatos, los cuales son considerados antinutrientes que repercuten directamente en la correcta absorción del calcio en el organismo. Debido a esta problemática, diversos autores han identificado este tipo de sales en nopales y otros vegetales, observando que tienen formas bien definidas conocidas comúnmente como “drusas” (Mc Conn y Nakata, 2004).

Los cristales de oxalato de calcio son precipitados que tienen una morfología y ubicación especial, juegan un papel central en las funciones de los vegetales, entre las que incluyen la regulación en los niveles de calcio y la detoxificación de metales pesados (Jáuregui y Moreno, 2004).



Giniestra et al., (2009) encontraron la presencia grandes cantidades de cristales de oxalatos de calcio tanto en cladodios frescos como liofilizados, principalmente en el colenquima de estos.

En nopales tiernos son altas las concentraciones de oxalatos, pero al aumentar su desarrollo estas sales disminuyen, lo cual no compromete la biodisponibilidad de las otras sales de calcio que pudieran estar presentes en el nopal (Contreras-Padilla et al., 2011).

Pese a esto no existe en la literatura ningún reporte de la identificación de otro tipo de sales de calcio en cladodios que pudieran ser importantes desde el punto de vista nutricional. Tampoco se encuentran citas de la identificación de sales en las diferentes fracciones que componen a este.

Por lo anterior se presentó la necesidad de separar las diferentes fracciones de los cladodios, las cuales se caracterizan por ser solubles e insolubles, ya que principalmente en la parte interna blanda de estos se localiza el parénquima, dentro del cual, se encuentran cientos de células buliformes que contienen agua, sales y mucílago (Loubet, 2008).

El mucílago es un hidrocoloide, el cual es parte de fracción soluble, y es de suma importancia medica, tecnológica e industrial debido a sus propiedades nutricionales, además de las características fisicoquímicas que posee lo cual le confiere diversas propiedades funcionales a fin de que pueda ser utilizado en productos medicinales, cosméticos, material para construcción, así como fuente de colorantes naturales y como aditivo para diversos alimentos. (Stintzing y Carle, 2005).

Adicionalmente, diversos autores reportan que puede ser utilizado como diurético (Galati et al., 2002) y como agente antiinflamatorio, analgésico, hipoglucemiante y para la prevención y regulación del colesterol debido a las propiedades y compuestos que posee (Stintzing y Carle, 2005; Magloire, 2006).

A pesar de ser una sustancia altamente apreciada, ha sido poco utilizada, debido al bajo rendimiento en el proceso de extracción y a la pureza o calidad del mismo, ya que estos procesos son costosos y complejos. En general la



mayoría de estos métodos se realizan por extracción química, utilizando solventes poco amigables con el medio ambiente (Medina-Torres et al., 2000; Arizmendi, 2004; Matsuhira et al., 2006)

En este trabajo se presenta una importante aportación tecnológica en cuanto a la metodología de extracción de las diferentes fracciones solubles e insolubles de nopal y una propuesta de evaluación y caracterización de la parte soluble para la obtención de un mayor rendimiento y pureza del mucílago.

Para esto se utilizaron nopales de 100 días maduración, es decir nopales no comercializables como verdura de aproximadamente 400 g de peso de los cuales se obtuvieron fracciones tanto soluble como insoluble, así como del nopal mismo. A partir de esta separación, se identificaron y cuantificaron las diferentes sales de calcio que se encuentran presentes en cada una de estas, mediante técnicas espectrofotométricas, tales como microscopia electrónica de barrido a alto vacío, difracción de rayos X, espectroscopia Infrarrojo y espectroscopia de absorción atómica, teniendo esto gran impacto desde el punto de vista nutricional, ya que el nopal es una fuente atractiva, rentable y sostenible para la ingesta de este mineral.



II. ANTECEDENTES

2.1 El nopal

El nopal ha representado, para los mexicanos, en su desarrollo histórico, uno de los elementos bióticos más relevantes y de mayor significado cultural, ya que se utiliza como alimento (verdura o fruto), bebida alcohólica, dulce, forraje, producto industrial, etc. Su valor cultural y biótico ha quedado plasmado en códices, pinturas y bibliografías antiguas; su significado histórico es evidente (Granados y Castañeda, 2003).

En la República Mexicana se conoce como nopales a un gran número de especies del género *Opuntia* de la familia botánica *Cactaceae*, la cual, debido a sus características tanto morfológicas como físicas, le permite desarrollarse en condiciones extremas de humedad y temperatura, por lo que el nopal tiene una alta adaptabilidad ecológica y puede encontrarse en diversas condiciones climáticas (Stintzing y Carle, 2005).

El cultivo del nopal se puede limitar por tres razones: a) la abundancia de humedad, b) la carencia de nutrientes y c) las temperaturas bajas que llegan a quemar las yemas de crecimiento. A pesar de esto, en México, se ubican en zonas ecológicas extensas donde se pueden establecer su cultivo y desarrollo de vegetación natural (nopaleras) con buenos resultados (Stintzing y Carle, 2005).

La planta y sus frutos toman diferentes nombres de acuerdo a los países en los que se encuentran. El nombre propio original de la tuna en la lengua náhuatl es “nochtli”. No obstante, los españoles rebautizaron al nopal con el nombre de chumbera y la fruta como higo de las Indias, o, en la actualidad, higo chumbo. En Italia se conoce como “fico d’India”, en Francia le llaman “figue de Barbarie”; en Estados Unidos de América y Sudáfrica “prickly pear”, (nombre que esta evolucionando actualmente a “cactus pear”, a fin de eliminar el término considerado algo peyorativo de prickly, espinoso); en Israel se conoce como “sabras”, que significa espinoso por fuera pero dulce por dentro. En Eritrea y Etiopia son llamados “beles”. En la India se conocen según las lenguas locales



como “nagphani”, “anda torra” o “chapathi balli”. En Brasil, como “palma forrageira”, ya que se cultiva principalmente para la producción de forraje (Stintzing y Carle, 2005; Sáenz et al., 2006).

A lo largo de la historia el nopal ha formado parte importante de la dieta tanto de humanos como de animales (Rodríguez et al., 2007). Generalmente es consumido como vegetal en diferentes etapas de maduración. Estas etapas van desde 24 a 48 días, lo que corresponde a nopales que tienen un peso de 60 a 150 g respectivamente. Sin embargo, se le han dado otros usos diferentes como por ejemplo el medicinal para la prevención y agente auxiliar de algunas enfermedades (Stintzing y Carle, 2005).

2.2 Taxonomía del nopal

Se han descrito hasta la fecha 125 géneros y 2,000 especies de nopal. En México se cuenta con más de 100 especies del género *Opuntia*, y es en las zonas semiáridas donde existe la variación más amplia, por lo que algunos botánicos lo consideran como el centro de origen de los nopales (Bravo-Hollis, 1978; Sáenz et al., 2006). En el cuadro 1 se muestra su descripción botánica.

Cuadro 1. Descripción botánica del nopal

Nombre común	“Nopal” (México)
Nombre científico	<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Millar
Reino	Vegetal
Subreino	<i>Embryophita</i>
División	<i>Angiospermae</i>
Clase	<i>Dicotyledoneae</i>
Subclase	<i>Dialipetalas</i>
Orden	<i>Opuntiales</i>
Familia	<i>Cactaceae</i>
Subfamilia	<i>Opuntioideae</i>
Tribu	<i>Opuntiae</i>
Género	<i>Opuntia</i>
Subgénero	<i>Platyopuntia</i>

Fuente: (Sáenz et al., 2006)



2.3 Estado geográfico actual del nopal

México es el principal productor de nopal con un 90% de la producción mundial (SAGARPA, 2011). En la figura 1 se muestra la distribución geográfica de los estados con mayor producción de nopal.



Figura 1. Distribución geográfica de la producción de nopal en la República Mexicana

Los principales estados productores de nopal son San Luis Potosí, Zacatecas, Aguascalientes, Distrito Federal, Puebla, Jalisco, Michoacán y Oaxaca. (SAGARPA, 2011).

Esta producción se divide básicamente en 3 clasificaciones, dependiendo del tamaño de éstos, los cuales son el nopal tipo verdura (676,180.66 Ton, el tipo tunero (378,697.94 Ton.) y el forrajero (130,035.04 Ton.) Los dos primeros son los que se utilizan como alimento, y forman parte de la dieta diaria de tal manera que el consumo per cápita de este vegetal es de 8.5 kg por año. En lo que respecta al nopal forrajero, este comúnmente se utiliza como alimento para



ganado, ya que por su tamaño es el que se queda en las pencas, representando este un importante desperdicio postcosecha (SAGARPA, 2011) (Figura 2).



Figura 2. Gráfica de producción nacional de nopal.

México es el principal exportador mundial con alrededor de 1,650 toneladas en fresco y unas 4,000 toneladas procesadas a Estados Unidos y cantidades menores a otros países (Instituto Nacional de Ecología, 2011). La producción mundial de nopal se estima en alrededor de 600 mil toneladas y el rendimiento varía de 4 toneladas por hectárea hasta 45 toneladas por hectárea. El principal motivo de estas diferencias probablemente se deba a las diversas técnicas de manejo y diseños de cultivo implementados en cada lugar (Instituto Nacional de Ecología, 2011).

Generalmente, la cosecha de nopales para ser comercializados se inicia cuando alcanzan una longitud de 20-25 cm y pesan de 90 a 100 g (Cantwell, 1999; Pimienta-Barrios, 1993), aunque la norma de calidad CODEX STAN 185-1993, considera como tamaños comerciales las pencas con una longitud entre 9 y 30 cm (FAO/OMS, 1993). Los cladodios pequeños (12 cm) o grandes (cerca de 30 cm) se destinan a la elaboración de nopal mínimamente procesado (Rodríguez-Felix, 2002).



2.4 Estructura del nopal

Las tres estructuras principales del nopal para el consumo humano son el cladodio, la tuna y el xoconostle. Los cladodios o mejor conocidos como pencas, son tallos de cutícula gruesa y cerosa, en forma de paletas, compuestas por el clorenquima y parénquima, este último está constituido por células vivas. Este es el tejido interno de los cladodios y constituyen la forma convencional del consumo de nopal (Instituto Nacional de Ecología, 2011).

En la Figura 3 se observa la composición anatómica de los cladodios de nopal: 3 a) externa (clorenquima) y 3 b) interna (parénquima). Estas fotografías corresponden a nopales de 400 g es decir de aproximadamente 100 días de maduración. La Figura 3 a, muestra la estructura externa de los cladodios de nopal llamada colénquima, en esta parte es donde se localiza la mayoría de la fibra insoluble. En la figura 3 b, se muestra mediante un corte longitudinal la estructura interna de los cladodios, llamado parénquima, la cual se caracteriza por contener la mayor parte de la fibra soluble, así como polisacáridos, proteínas y minerales.

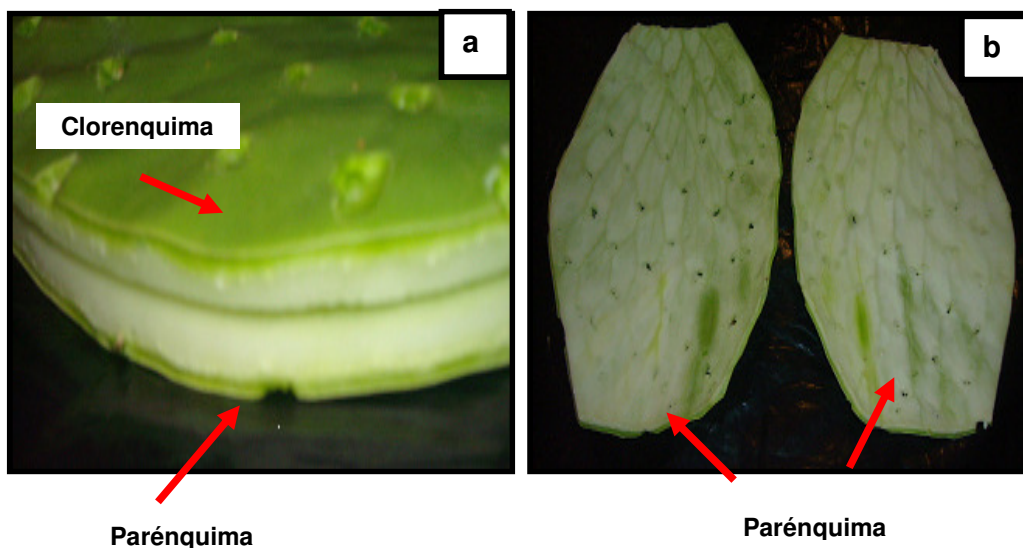


Figura 3. Composición anatómica de cladodios de nopal *Opuntia ficus indica*.

3 a) parte externa (colénquima); 3 b) parte interna (parénquima).



En el parénquima se encuentran las células que contienen el mucílago conocidas como idioblastos. (Sáenz et al., 2007). En la Figura 4 en la cual se puede apreciar la presencia de estas células.

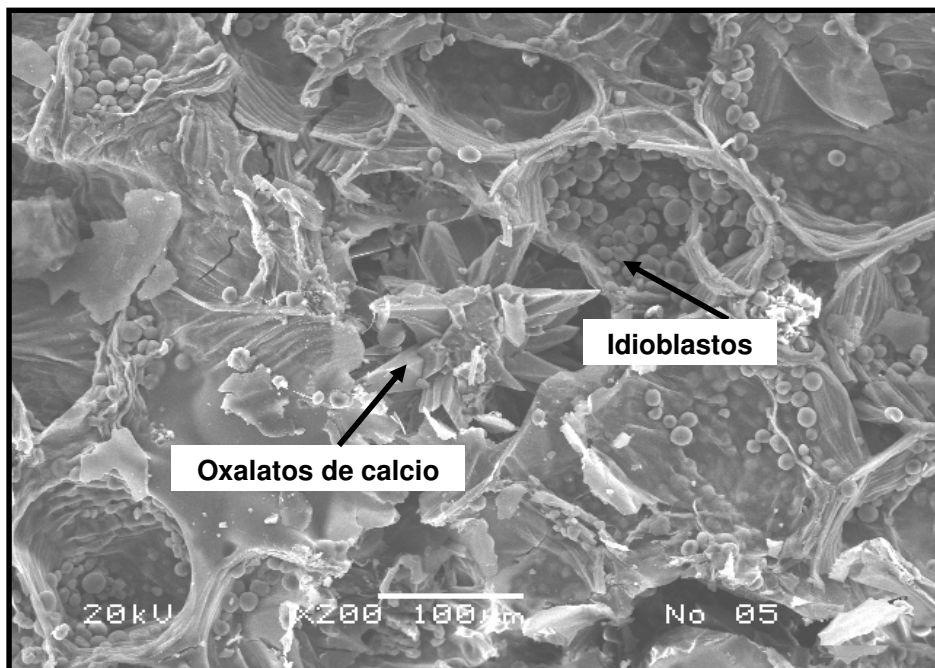


Figura 4. Idioblastos de nopal (células mucilaginosas).

Los idioblastos pueden ser de 3 tipos: células buliformes, las cuales son grandes, en forma de burbuja, muy vacuolizadas, con membranas radiales. Estas se encuentran localizados principalmente en la parte blanda del nopal (parénquima), aunque en el colénquima hay una presencia minoritaria también de estos. La función de estas células es la de plegar y desplegar la lámina por cambios de turgencia o almacenamiento de agua. Las células silíceas y suberosas, son típicas de la epidermis de gramíneas, su presencia permite caracterizar especies. Finalmente, los litocistos, son células que contienen cistolitos, los cuales son agregados de cristales de carbonato de calcio. (Sugimura et al., 1999). También se encuentran numerosos cristales de calcio conocidos como oxalatos en forma característica de drusas con múltiples puntas. Estos cristales generalmente se les encuentra asociados con la fibra insoluble de los nopales, son de tamaño mucho mayor que los carbonatos de calcio. En la Figura 4 se les puede observar en la parte central, escondidos bajo las fibras insolubles de nopal.



2.5 Valor nutritivo

Feugang-Magloire et al. (2006) realizaron recopilaciones bibliográficas, a fin de obtener un promedio del contenido nutrimental de las especies de (*Opuntia*), en las cuales se reportan valores bajos de proteína (4 a 10%) y lípidos (1 a 4%) así como, altos valores en carbohidratos (64-71%).

Algo importante de destacar en el nopal es el alto contenido de agua (90-96%), además de ser rico en vitamina C, β -Caroteno, tiamina, riboflavina y niacina. Adicionalmente, es una fuente importante de minerales tales como potasio, calcio, sodio y hierro. También tiene una importante cantidad de fibras como la celulosa (11%), hemicelulosa (8%), y lignina (3.9%), así como una gran variedad de pectinas y mucílagos. Los primeros tres componentes forman parte de la fibra dietética, es decir, de la fracción insoluble. El mucílago o baba corresponde a la fracción soluble en agua, cuya composición es principalmente azúcares simples; como arabinosa (42%), xilosa (22%), galactosa (21%), ácido galacturónico (8%), y ramnosa (7%) (Stintzing y Carle, 2005).

Rodríguez-García et al. (2007) encontraron que al aumentar el estadio de maduración de los cladodios, se incrementa la cantidad de fibra insoluble y disminuye la de fibra soluble. En lo que respecta a la cantidad de calcio, este aumenta en cladodios con etapa de maduración avanzada de 1.56% (60g) a 3.72% (200g). Sin embargo, la existencia de oxalatos de calcio no limita la biodisponibilidad de este mineral. En etapas de maduración avanzadas observaron que los oxalatos se reducen hasta un 50% (Contreras-Padilla et al., 2010). Los minerales predominantes en el nopal son el calcio, potasio, magnesio, fósforo, sodio y pequeñas cantidades de hierro (Feugang-Magloire, et al., 2006).

En años recientes, debido al alto contenido de calcio que posee el nopal se le ha considerado como una fuente alterna de este mineral, el cual puede ayudar a reducir y prevenir la pérdida de la densidad mineral ósea de acuerdo a lo reportado por Rodríguez-García et al. (2007).



Aunado a esto, se ha demostrado que el nopal posee un alto contenido de antioxidantes expresados como flavonoides, fenoles y quercetina (Ginestra et al., 2009). En el Cuadro 2 se muestra el análisis químico proximal de este vegetal.

Cuadro 2. Análisis químico proximal de nopal en base seca y fresca

Componente	g/100 g	g/100 g
	(Base en materia seca)	(Base en materia húmeda)
Agua	----	88-95
Carbohidratos	64-71	3-7
Proteínas	4-10	0.5-1
Fibra	18	1-2
Lípidos	1-4	0.2
Cenizas	19-23	1-2
Potasio	50 mg	166 mg
Calcio	18-57 mg	93 mg
Sodio	---	2 mg
Hierro	59-66 µg/g	1.6 mg

Fuente: (Stintzing y Carle, 2005).

Mc Conn y Nakata (2004) realizaron estudios *in vitro* en vegetales, concluyendo que el contenido de calcio en cladodios de nopal no es biodisponible debido a que se encuentra en forma de cristales de calcio como oxalatos. Sin embargo, en dichos estudios no mencionan el estadio de maduración en los cuales se realizaron estos análisis, razón por lo cual sus datos pudieran corresponder a cladodios tiernos. Estos autores tampoco hacen mención si existen otras sales de calcio en los nopales.

A este respecto, Contreras-Padilla et al. (2011) evaluaron el contenido tanto de oxalatos como de calcio a diferentes etapas de maduración en cladodios de nopal *Opuntia ficus indica* variedad redonda, encontrando que la acumulación de calcio tiene una relación positiva con el tiempo de maduración, ya que cuando este aumenta, la concentración de calcio aumenta también.



En cuanto a la acumulación de oxalatos, estos también dependen de la etapa de maduración en la que se encuentren los cladodios. Ellos evaluaron cladodios desde 40 días de maduración hasta 140 días, encontrando que estos últimos presentan el menor contenido de oxalatos. No obstante, estos autores mencionan que la acumulación de estos oxalatos tienen relación con diversos factores ambientales incluyendo condiciones climáticas, tipo de suelo, así como a las necesidades específicas de la planta dependiendo de la variedad que se tenga, es decir tienen un comportamiento cíclico. Por lo anterior, se dieron a la tarea de obtener una ecuación empírica la cual puede ayudar a estimar el tiempo óptimo de corte de los cladodios, de tal forma que se tenga una alta concentración de calcio y una baja de oxalatos en estos. (Contreras-Padilla et al. 2011)

Debido a su composición, al nopal se le atribuyen ciertos efectos terapéuticos en el organismo como por ejemplo, es considerado como un agente anticarcinogénico, antiviral, antiinflamatorio e hipoglucemiante, además de que ayuda a reducir los niveles de colesterol en sangre (Feugang-Magloire et al., 2006).

2.6 Fracciones del nopal

Los cladodios son una fuente importante de fibra, de calcio y de mucílago, tres componentes que son necesarios para integrar una dieta saludable (Saenz, 2004; Ginestra et al., 2009).

El nopal se compone de dos fracciones diferentes las cuales tienen que ver con la fracción insoluble, que esta asociada básicamente a fibras insolubles y la fracción soluble la cual se relaciona con polisacáridos, minerales, compuestos fenólicos, proteínas y mucílago (Saenz, et al., 2004)

Sepúlveda et al. (2007) definieron a este último como un hidrocoloide. Es una sustancia polimérica compleja de la naturaleza de hidratos de carbono, con una estructura muy ramificada, que contiene proporciones variables de L-arabinosa, D-galactosa, L-ramnosa y D-xilosa, así como de ácido galacturónico en diferentes proporciones. La proporción de estos monómeros en la molécula



varía de acuerdo a diversos factores como: variedad, edad, condiciones ambientales y estructura empleada para la extracción (fruto, cáscara, cladodio), entre otros factores. La composición química del mucílago básicamente consiste en proteínas, cenizas, nitrógeno, calcio y potasio, los cuales son de gran interés con respecto a la nutrición humana.

A pesar que no existen estándares de calidad para el mucílago extraído de las pencas del nopal, su grado de pureza reflejado en el contenido de cenizas, tipo y cantidad de minerales, su capacidad antioxidante, su adhesividad, su color y otros análisis dependiendo del uso que se le otorgue, pueden ser aspectos a considerar. La estructura del mucílago se propone como dos distintas fracciones solubles en agua. Uno es una pectina con propiedades gelificantes con el Ca^{2+} , y el otro es un mucílago sin propiedades gelificantes. El mucílago, difícil de fluir, se puede obtener de algunas cactáceas, o de algunos frutos; tales como: nopal, sábila, mezquite, yaka, agave, maguey, tejocote, entre otros (Sáenz et al., 2004; Stintzing y Carle, 2005).

El mucílago del nopal contiene pectinas como componente mayoritario de sus carbohidratos (Medina-Torres et al., 2000; Majdoub et al., 2001; Stintzing y Carle, 2005; Cárdenas et al., 2008). Este mucílago constituye un hidocoloide que podría integrar la oferta de una gran gama de agentes espesantes de amplio uso en la industria de alimentos y farmacéutica, además de que tiene una gran capacidad de absorción de agua. Su poder espesante está siendo actualmente estudiado (Cárdenas et al., 1997; Medina-Torres et al., 2000; Medina-Torres et al., 2003; Sepúlveda et al., 2003; Cárdenas et al., 2008), con resultados interesantes, por lo que si se mejoran los rendimientos de extracción podría competir con gomas de gran uso como la goma garrofín, la goma guar u otros agentes espesantes, aunado al valor nutricional que tiene como buena fuente de calcio y fibra dietaría.

La composición química del mucílago de cladodios de *Opuntia ficus-indica*, ha sido objeto de varios estudios. Cárdenas et al. (1997) reportaron en porcentaje: 24.6-42% de arabinosa, 21-40.1% de galactosa; 8-12.7% de ácido galacturónico; 7-13.1% de ramnosa y 22-22.2% de xilosa. Adicionalmente,



mostraron que el peso molecular de este hidrocoloide es de 3×10^6 . Esto fue menor que el indicado por Trachtenberg y Mayer (1981) de 4.3×10^6 .

Medina-Torres et al. (2000) también realizaron estudios sobre la composición del mucílago de nopal *Opuntia ficus indica*, encontrando que es un polisacárido de alto peso molecular, el cual contiene en su estructura hasta 30,000 azúcares diferentes. El biopolímero es un polisacárido que contiene residuos de arabinosa, galactosa, ácido galacturónico, ramnosa y xilosa. Obteniendo el peso molecular el cual fue de 2.3×10^4 , mucho mayor al reportado anteriormente por otros autores. Probablemente este hecho, tenga alguna relación con el estado de madurez de los nopales, con la tierra de cultivo, con la variedad de nopal de la que se trate o bien con la forma de extracción.

Matsuhira et al. (2006) encontraron que el mucílago es un polisacárido neutro, el cual es una mezcla de un glucano neutral, glicoproteínas y un polisacárido compuesto de L-arabinosa, D-galactosa, L-ramnosa, D-xilosa, ácido D-galacturónico y ácidos urónicos.

2.7 Importancia del proceso de extracción de la fracción soluble

Diversos estudios han demostrado que el mucílago de nopal es un ingrediente importante para la industria de alimentos ya que este contiene propiedades particulares (McGarvie y Parolis, 1979; Nobel et al. 1992).

Varios autores han estudiado algunos métodos de extracción y purificación para el mucílago. Muchos de ellos han homogenizado cladodios con agua tibia, para posteriormente centrifugar y precipitar el concentrado obtenido con etanol, alcohol isopropil o bien acetona (McGarvie y Parolis, 1979), ellos extrajeron mucílago a partir de cladodios frescos de nopal *Opuntia ficus indica*, de un peso aproximado de 6.606 g, los cuales fueron molidos, la mezcla se centrifugó y se filtró para posteriormente precipitarlo con acetona, decantarlo y secarlo. La fracción obtenida se seco a 50 °C. En dicha fracción se encontraron residuos de galactosa, xilosa, arabinosa, ramnosa y ácido galacturónico.

Nobel et al. (1992) utilizaron como solvente 2-propanol para precipitar la fracción soluble de varias especies de nopal, según lo propuesto por Goldstein



y Nobel (1991). Los resultados obtenidos indicaron que al menos el 93% de la precipitación obtenida por esta técnica fue mucílago.

Así mismo, Del Valle et al. (2005), evaluaron diferentes recubrimientos para fresas elaborados a partir de mucílago, extrayendo éste únicamente con agua. El método de extracción consistió en utilizar nopales frescos, los cuales se cortaron en cubos de aproximadamente 1 cm^3 , para después homogenizarlos con agua destilada en una solución del 20% (peso/volumen), una vez macerada la suspensión se centrifugó por 10 min a 4500 rpm, el sobrenadante fue lo que se utilizó para la elaboración de los recubrimientos, encontrando que efectivamente tienen un efecto protector sobre la fruta aplicada.

Continuando con estudios de extracción, Matsuhira et al. (2006) obtuvieron rendimientos de mucílago de 3.8%, mediante un método de extracción basado en una centrifugación de 4000 rpm, en donde el sobrenadante se concentró con agua destilada por 48 horas, esta solución se precipitó con etanol en una relación 1:5. El precipitado se disolvió en agua destilada para después separarlo por medio de centrifugación y una vez separado se secó.

Sepulveda et al. (2007) estudiaron 6 diferentes condiciones de extracción con cladodios frescos de 200 g. Las variables consideradas fueron la relación cladodios-agua y tiempo-temperatura. Se estudiaron dos relaciones de cladodios-agua las cuales fueron 1:5 y 1:7 respectivamente, se utilizaron dos temperaturas diferentes 16 y 40 ± 2 °C. Para el caso de las temperatura de 16 °C se estudiaron tiempos de extracción de 8 y 16 h, mientras que para el caso de 40 °C el tiempo evaluado fue de 4 h. Para la extracción del mucílago específicamente, el concentrado obtenido se precipitó con dos solventes diferentes etanol y alcohol isopropil al 95%, para posteriormente centrifugarlo a 3,500 rpm x 10 min, filtrarlo y secarlo a 70 °C por 4 h.

El mayor rendimiento obtenido bajo estas condiciones fue de 19.26% (g de mucílago/100 g de nopal en peso fresco) en peso seco y de 1.56% en peso fresco, esto a una temperatura de extracción de 40 °C, un tiempo de extracción de 4 h y una relación de 1:7 cladodios-agua, con una relación e agua-alcohol para la precipitación del mucílago de 1:4. En todas las condiciones evaluadas,



el color y la pureza del mucílago no se vieron afectados, sin embargo, el contenido de calcio si se vio disminuido debido a las condiciones de extracción.

Medina (2005), obtuvo un rendimiento de mucílago de 9.72% a partir de nopal fresco, mediante un proceso de molienda para posteriormente macerar y centrifugar la pulpa a 10000 rpm por 20 min a 5 °C, con la finalidad de separar la fibra para después realizar una extracción con acetona con un relación 1:2, decantando y secando lo precipitado.

Weirong et al. (2010) Propusieron una metodología más compleja utilizando el método de superficie de respuesta a fin de poder determinar las condiciones óptimas de extracción para poder caracterizar los polisacáridos presentes en el nopal. En este estudio se utilizaron cladodios frescos, los cuales se mezclaron con agua hirviendo (90 °C) por un tiempo de 4 h, después se centrifugó a 3000 rpm por 20 min a fin de remover fragmentos de desechos. La solución se concentró en un evaporador rotatorio, esta solución se precipitó con etanol al 95% por 48 h a 4 °C. El precipitado se centrifugo a 3000 rpm por 20 min y se lavó dos veces con acetona para posteriormente secarlo a 40 °C obteniendo un polvo de color café con un rendimiento de extracción de 0.694%. Sin embargo, en base a la aplicación del modelo de superficie de respuesta se observó que las condiciones óptimas de extracción fueron las siguientes: temperatura = 86.1 °C, tiempo = 3.61 h y una relación agua-material de 3.72. Bajo estas condiciones se obtuvo un rendimiento de extracción de 0.698%., valor similar al obtenido experimentalmente.

Hasta ahora, las metodologías propuestas para la extracción de mucílago de cladodios son complejas y costosas por la cantidad de solvente utilizado y los tiempos que se manejan para esta. Los diferentes trabajos publicados han reportado las metodologías de extracción de la fracción soluble únicamente de nopal fresco. Todos han utilizado algún solvente. Algunos solventes amigables con el medio ambiente otros no. Sin embargo, no en todos los casos han reportado el rendimiento de mucílago así como la eficiencia de separación de la fracción soluble e insoluble y más aún la calidad del mismo.



El almacenamiento y transporte de nopales en fresco requiere de áreas extensas de almacenamiento y resguardo debido a la humedad de este vegetal, lo que implica un alto costo y una corta vida útil del material, mientras que a los nopales a los cuales se les somete a un proceso de deshidratación, alargan su vida de anaquel y facilitan el transporte y almacenamiento. Por tales razones es de suma importancia explorar la extracción de mucílago partir de nopal deshidratado y evaluar tanto el rendimiento como la calidad del mismo (Stintzing y Carle, 2005).

Para la evaluación de la calidad de la fracción soluble, definiéndose a la calidad como la pureza de la fracción, sin contaminación de la fracción insoluble, es necesario establecer variables de calidad, entre las cuales las más significativas son: color, densidad, cantidad de sólidos totales presentes en la fracción soluble, el volumen recolectado en la fracción soluble (mL/L) por litro de la suspensión adicionada, el tiempo de residencia (min) y el rendimiento (g mucílago/ 100 g nopal) X 100

2.8 Sales de Calcio

El calcio en especial, es de suma importancia para en el organismo, ya que del 100% del calcio consumido, el 99% es utilizado para la formación de estructura ósea y dientes, mientras que sólo el 1% se utiliza para desempeñar funciones metabólicas clave en el organismo. Este porcentaje es el calcio biológicamente activo, el cual participa de diversas maneras, por ejemplo, como segundo mensajero (Bronner y Pansu, 1999), en procesos de vasodilatación, en la contracción muscular, la transmisión de impulsos nerviosos y la coagulación de la sangre (Theobald, 2005).

Entre las principales sales de calcio destacan tanto los carbonatos de calcio CaCO_3 , lactatos de calcio, citratos de calcio y oxalatos de calcio. Las sales de calcio que presentan mayor contenido de este mineral son las del carbonato de calcio (Castelo-Branco y Haya, 2008).

El carbonato de calcio es la sal más pura del calcio en la naturaleza y se absorbe en el organismo humano a nivel del intestino delgado por medio de un



transportador, el cual es la vitamina D. Este se deposita en las células del epitelio y estimula la síntesis de RNA fosfatasa alcalina y una proteína ligadora de calcio. El carbonato de calcio depende del ácido gástrico para convertir el ión calcio en biodisponible (De Portela, 1993).

En lo que respecta al lactato de calcio, este es una sal del ácido láctico, producido por las bacterias en los alimentos fermentados, los cuales son ricos en este componente. Este tipo de sal se encuentra principalmente en los derivados lácteos y es a partir de esta fuente donde se obtiene la mayor ingesta de calcio en los seres humanos, pese a esto algunas personas presentan intolerancia a la lactosa, por lo cual requieren de fuentes de calcio diferentes a estas. Esta sal contiene 18,4 % de ión calcio. (Remington, 1998).

Las sales de citrato de calcio son muy solubles, por lo que, al ingerirlas, se disuelven sin ningún problema en el estómago y en el intestino. Este tipo de calcio es más biodisponible que el carbonato, cuando es consumido con las comidas, es decir, tiene una mejor absorción de aproximadamente un 22 a un 27%, ya sea con la comida o con el estómago vacío. (Sakhaee et al., 1999; Remington, 1998).

El citrato de calcio permanece en forma soluble en el medio alcalino del intestino delgado. Se usa para la prevención y el tratamiento de la osteoporosis, las carencias de calcio, en los períodos de crecimiento, el embarazo, la lactancia y por dietas insuficientes (Sakhaee et al., 1999; Remington, 1998).

El fosfato de calcio es una buena fuente de calcio durante el embarazo, la lactancia o hipocalcemia de leve a moderada debido a los porcentajes de este mineral elemental (Remington, 1998; Uma et al., 2001).

En lo que respecta al gluconato de calcio, este no produce irritación gastrointestinal y tiene un sabor muy dulce. Debido a la poca cantidad de calcio elemental que contiene debe emplearse varias veces para cubrir con los requerimientos diarios de calcio (Remington, 1998).



En el Cuadro 3 se describen algunas características de diversas fuentes de calcio utilizadas en la industria de alimentos. Se observa que el carbonato de calcio es la sal con el mayor contenido de calcio elemental, incluso presentando mayor cantidad de este mineral que el citrato y el lactato.

Cuadro 3. Importantes características de las fuentes de calcio comúnmente utilizadas en la industria.

Sal	Solubilidad a 25 °C (g/L)	Sabor	Contenido de calcio (%)
Carbonato de calcio	Insoluble	Alimonado	40%
Fosfato de calcio	Insoluble	Arenoso, suavemente dulce	17-38%
Citrato tricálcico	0.2	Neutral	21%
Lactato de calcio	9.3	Suavemente dulce	13%
Lactato-gluconato de calcio	45-50	Neutral	10-13%
Gluconato de calcio	3.5	Suave, Neutral	9%

Fuente: (Gerstner, 2002).

Mc Conn y Nakata (2007) evaluaron el contenido de calcio en diferentes vegetales incluidos nopales tiernos, en donde encontraron una gran cantidad de sales de oxalato de calcio. Concluyeron que, a la larga, estas sales provocan problemas a nivel renal, también explicaron que estas sales intervienen como antinutrientes para una adecuada absorción de este mineral. Dichos oxalatos, son aniones del ácido oxálico. Este es un ácido orgánico acumulado como un producto metabólico final en las plantas, comúnmente se encuentra unido al calcio para formar sales insolubles como son los oxalatos de calcio (Caliskan, 2000). Estos oxalatos de calcio son insolubles y se almacenan en los tallos viejos de las cactáceas (Granados, 2003). La formación de oxalato de calcio en un proceso básico de las plantas y se localizan tanto en depósitos extracelulares como intracelulares, el porcentaje de acumulación de estos cristales en las plantas es de 3 a 80% en su peso seco los cuales forman un 90% del calcio presente. La cantidad, distribución y morfología de estos cristales, así como la forma y tamaño varían dependiendo de diversos factores.



El contenido de estos es una limitante para que el calcio pueda ser utilizado, debido a la elevada capacidad que poseen para atrapar este mineral, aunque poseen funciones de protección a la planta como, destoxificación, balance iónico, etc. (Vincent y Nakata, 2005).

El oxalato de calcio se presenta en varias formas de hidratación, una de estas formas es el oxalato de calcio monohidratado ($\text{CaC}_2\text{O}_4\text{H}_2\text{O}$), también conocidos como *wewellite*. Este compuesto es caracterizado por dos ejes oblicuos, dos lados iguales y uno desigual, es el más estable termodinámicamente hablando. Otra forma del oxalato de calcio es el oxalato de calcio dihidratado ($\text{CaC}_2\text{O}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$) o *weddellite*, el cual es menos soluble que el primero, y finalmente, el trihidratado ($\text{CaC}_2\text{O}_4\cdot 3\text{H}_2\text{O}$), generando todos sus ejes desiguales y nunca forman ángulos rectos (Thongboonkerd et al., 2006).

Este compuesto se cristaliza en forma tetragonal o en forma de drusas y es el que se presenta en los nopales (Figura 5). Nótese la forma de drusas característica de los oxalatos de calcio en los nopales.

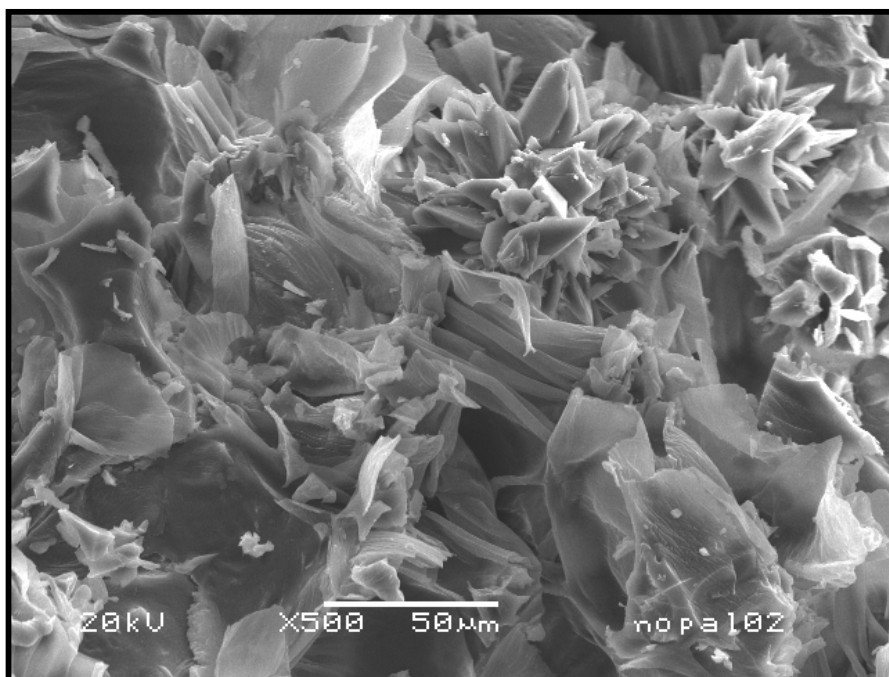


Figura 5. Oxalatos de calcio presentes en el nopal

Rodríguez-García et al. (2007), observaron como aumenta el contenido de calcio en función de la maduración teniendo valores de 1,56% de calcio (60 g



a 3.72% (200 g) sin embargo, la cantidad de oxalatos disminuye conforme aumenta el estadio de maduración del vegetal. Así mismo también Contreras-Padilla (2011), mediante estudios realizados con diferentes estadios de maduración, concluyó que al aumentar la madurez de éstos disminuye el porcentaje de oxalatos en el nopal y no compromete la biodisponibilidad.

Sin embargo, adicional a los oxalatos, el mucílago del nopal también ha sido comúnmente estudiado. Henríquez-Rodríguez et al, (2009) extrajeron y caracterizaron de manera parcial mucílago de cactus Cardón Dato, el cual fue dializado y separado en dos fracciones, una soluble y otra insoluble cuya composición y tipos de enlace fueron analizados mediante técnicas de espectrofotometría infrarroja. Encontraron presencia de fracciones de ácido galacturónico compuesto característico en la mayoría de las pectinas.

Debido a esto, actualmente se utilizan diversas técnicas espectroscópicas para poder identificar y determinar la presencia minerales así como de oxalatos en la plantas, como es el caso de la microscopía electrónica de barrido (McConn y Nakata, 2004) la cual permite identificar la presencia y morfología de estos compuestos. En esta técnica se utiliza un microscopio electrónico de barrido, el cual utiliza un cañón de electrones de alta energía que sistemáticamente barre la superficie de la muestra a alto vacío. La interacción del cañón con la superficie de la muestra produce gran cantidad de señales en que se incluyen electrones de alta energía y electrones secundarios. La alta energía de los electrones secundarios permite la colección de la señal por el barrido en el sistema detector. La señal del electrón es convertida a señal electrónica y es proyectada a un tubo de rayos catódicos y pasada a un foto multiplicador. La imagen es transmitida a través de una cámara tipo televisión, en donde se logra observar una imagen de la superficie de la muestra con profundidad del campo. (Arenas, 1999).

Otra técnica muy utilizada es la de difracción de rayos la cual permite ver si las estructuras son cristalinas o son amorfas y permite identificar compuestos específicos dependiendo de lo que se tenga en la muestra, ya que es la huella digital de un compuesto. (Schulz y Baranska, 2006).



Los rayos X son ondas electromagnéticas de longitudes de onda muy pequeñas entre el orden de 10^{-9} y 10^{-5} , invisibles al ojo humano. Al hacer llegar rayos X a una sustancia, dependiendo de su transparencia, pueden cruzar la sustancia o puede suceder el fenómeno de difracción de rayos X, que consiste en que la luz se dobla al pasar por el extremo de una superficie y no sigue la propagación de la línea recta (Contreras-Padilla, 2011).

Los rayos X se utilizan en el estudio y análisis de estructuras de sustancias cristalinas, de tal manera que esta propiedad se aprovecha y se puede incluso, cuantificar los cambios en la cristalinidad del material expuesto a algún tratamiento o hablar en términos de la parte no cristalina conocida como amorfa. Es claro que distintas estructuras producen distintos patrones de difracción de rayos X. La gráfica obtenida de cualquier material se le conoce como difractograma de rayos X (Rodríguez-García et al., 2007).

Otra técnica de suma importancia, para la determinación de compuestos, es la espectrofotometría de infrarrojo (Schulz y Baranska, 2006), la cual se basa en la energía cinética de las moléculas mediante la absorción de energía de una radiación electromagnética, la cual tiene como fundamento la absorción de radiación electromagnética de las moléculas y la excitación de éstas es decir, la molécula pasa de un estado de baja energía a otro de energía mayor.

Todas estas absorciones aparecen en regiones diferentes del espectro electromagnético, ya que cada modo de excitación requiere una cantidad específica de energía. Esta técnica nos permite identificar compuestos presentes en determinada muestra (Skoog y Learly, 1995; Amezquita, 2003).

Para la cuantificación de minerales se utiliza comúnmente la técnica de espectroscópica de absorción atómica, en la cual se destruye la muestra que se va analizar, y permite determinar cuantitativamente el elemento presente, además de que realiza el análisis elemental de la mayoría de los elementos de la tabla periódica, en muestras sólidas o extractos líquidos. Para la determinación de un analito en una muestra, es necesario proporcionarle energía a los átomos y subir de nivel a los electrones, lo que se lleva a cabo en



el equipo utilizando una lámpara de cátodo hueco que debe ser del analito que se desea analizar.

En este nivel, los electrones están en un estado excitado con muy poca estabilidad, tratando de regresar a su nivel original. Los electrones en un átomo en estado basal absorben un *quantum* de energía, es decir, tienen una transición de un nivel de baja energía, a uno de alta energía. Cuando el electrón regresa al estado base hay emisión de luz. Se genera una serie de líneas a longitudes de onda bien determinadas a la cual se le conoce como espectro, que es detectado por un espectrofotómetro y que es específica para cada uno de los elementos. La absorción de energía y la concentración del analito están cuantitativamente relacionadas con la ley de Lambert-Beer (Skoog y Learly, 1995; Amezcuita, 2003; Gutiérrez et al., 2007; 2010).

III. JUSTIFICACIÓN

El nopal es una fuente potencial de minerales, en especial de calcio, el cual es de suma importancia no sólo en el desarrollo de huesos, sino en diversas funciones metabólicas.

Debido a esto, se han realizado varios estudios sobre la composición del nopal, en los cuales se han encontrado un alto contenido tanto de calcio total como de oxalatos, estos últimos son considerados antinutrientes, ya que afectan la absorción de este mineral en el organismo.

A pesar de esto, no se ha identificado, localizado y cuantificado la cantidad de carbonatos de calcio presentes en las diferentes fracciones del nopal (soluble e insoluble).

Por otra parte, es importante mencionar que en algunas poblaciones rurales no se tiene acceso a alimentos lácteos, ya que son catalogados de alto costo. El nopal puede ser una alternativa accesible de calcio para este sector de la población ya que en buena parte del territorio nacional se cultiva esta cactácea siendo adaptable a condiciones extremas de temperatura y humedad.



El hecho de que México sea el principal productor de nopal, permite explotar tanto las propiedades terapéuticas como nutricionales que posee esta cactácea.

Por lo anterior, es de suma importancia caracterizar, cuantificar y localizar los compuestos de calcio en el nopal a fin de considerarlo como una fuente potencial de este micronutriente, de tal forma que el consumo de este alimento en la dieta diaria aumente.

Aunado al beneficio nutricional que puede aportar el nopal, el procesamiento de éste como un alimento nutracéutico, puede ser también una alternativa para solucionar el problema de desperdicio postcosecha que actualmente representa para la industria agropecuaria ya que generalmente los cladodios grandes (400 g en adelante), llamados comúnmente forrajeros, se utilizan como alimento para ganado cuando se llegan a utilizar.



Para llegar a la solución del problema:

¿Se pueden identificar diferentes tipos de sales de calcio en nopales con diferente estado de maduración y las concentraciones de éstas son diferentes?

Por lo anterior, la hipótesis que se planteó esta basada en función del compromiso que se tiene en esta investigación, la cual se contrastó durante el trabajo experimental de la siguiente manera:

IV. HIPÓTESIS

El nopal es una cactácea con tallos en forma de raquetas, botánicamente llamadas cladodios. Estas pencas están llenas de células sin cloroplastos conocidos como células mucilaginosas o idioblastos, que son de tres tipos, células buliformes, silícicas o suberosas y listocitos. Su función principal es el almacenamiento de agua, mucílago y agregados de cristales de carbonato de calcio respectivamente. Los cladodios de nopal íntegros, en etapas avanzadas de maduración presentan altas concentraciones de minerales principalmente calcio, en forma de sales de oxalato. Sin embargo, el nopal está compuesto por dos tipos de fracciones solubles e insolubles. La fracción soluble está constituida por pectina, mucílago y gomas, la insoluble por celulosa, hemicelulosa y lignina.

Por lo tanto la localización de los oxalatos de calcio en forma de drusas se encontrará en la fracción insoluble debido a que estas sales presentan un tamaño mayor que cualquier otra sal de calcio. Mientras que si existe carbonato de calcio u otra sal de calcio estará asociada con la fracción soluble y la concentración de otras sales será mayor que la de oxalatos.



V. OBJETIVOS

Objetivo General

Identificar y caracterizar los compuestos de calcio presentes en las fracciones solubles e insolubles de cladodios de nopal *Opuntia ficus indica* de 100 días de maduración (400 g) mediante técnicas espectroscópicas.

Objetivos Específicos

I.-Obtener las mejores condiciones de extracción de fracción soluble e insoluble de nopal *Opuntia ficus indica* por medio de métodos mecánico-físicos (molienda, centrifugación, filtración y secado) para obtener las diferentes unidades experimentales con alta pureza.

II.-Caracterizar el concentrado de nopal, la fracción soluble (mucílago) e insoluble, mediante microscopia electrónica de barrido de alto vacío a fin de conocer su morfología e identificar las sales de calcio.

III.-Caracterizar el concentrado de nopal, fracción soluble (mucílago) e insoluble mediante difracción de rayos X para la identificación de sales de calcio y su microestructura.

IV.-Identificar cualitativamente los compuestos de calcio presentes en el concentrado de nopal, fracción soluble (mucílago) e insoluble mediante espectroscopia Infraroja.

V.-Cuantificar la concentración de compuestos de calcio en el concentrado de nopal, fracción soluble (mucílago) e insoluble, mediante espectroscopia de absorción atómica.

VI.- Cuantificar la presencia de carbonato de calcio en el concentrado de nopal, fracción soluble e insoluble, mediante técnicas volumétricas a fin de localizar la mayor concentración de estos compuestos.



VI. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

Esta investigación se realizó en diferentes instituciones que permitieron el uso de sus laboratorios con equipos necesarios para el desarrollo experimental de la tesis de maestría, se mencionan en orden de importancia:

- Facultad de Ciencias Naturales (UAQ), Querétaro, Qro.
- Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada (UNAM), Campus Juriquilla, Querétaro, Qro.
- Facultad de Estudios Superiores-Cuautitlán (UNAM), Edo. de México.

6.1 Desarrollo experimental

Los procedimientos experimentales se resumen en la Figura 6, el cual fue el mapa a seguir durante el trabajo experimental. El cuadro contiene las etapas en que se dividió el trabajo experimental y las técnicas que se utilizaron para la evaluación de las muestras obtenidas. Considérese a este cuadro como la organización racional y congruente de la descripción de actividades que corresponden al alcance de los objetivos.

En cuanto a su estructura y secuencia metodológica, el cuadro se dividió en tres etapas que se relacionan entre sí, las cuales fueron jerarquizadas con el fin de establecer prioridad a las actividades de mayor importancia y las que pueden realizarse de manera simultánea.

El cuadro ayuda a proyectar el trabajo conjunto. También aparecen niveles en que se trabajaron las variables independientes, y las conexiones entre los objetivos que se estudiaron y que sustentaron esta investigación.

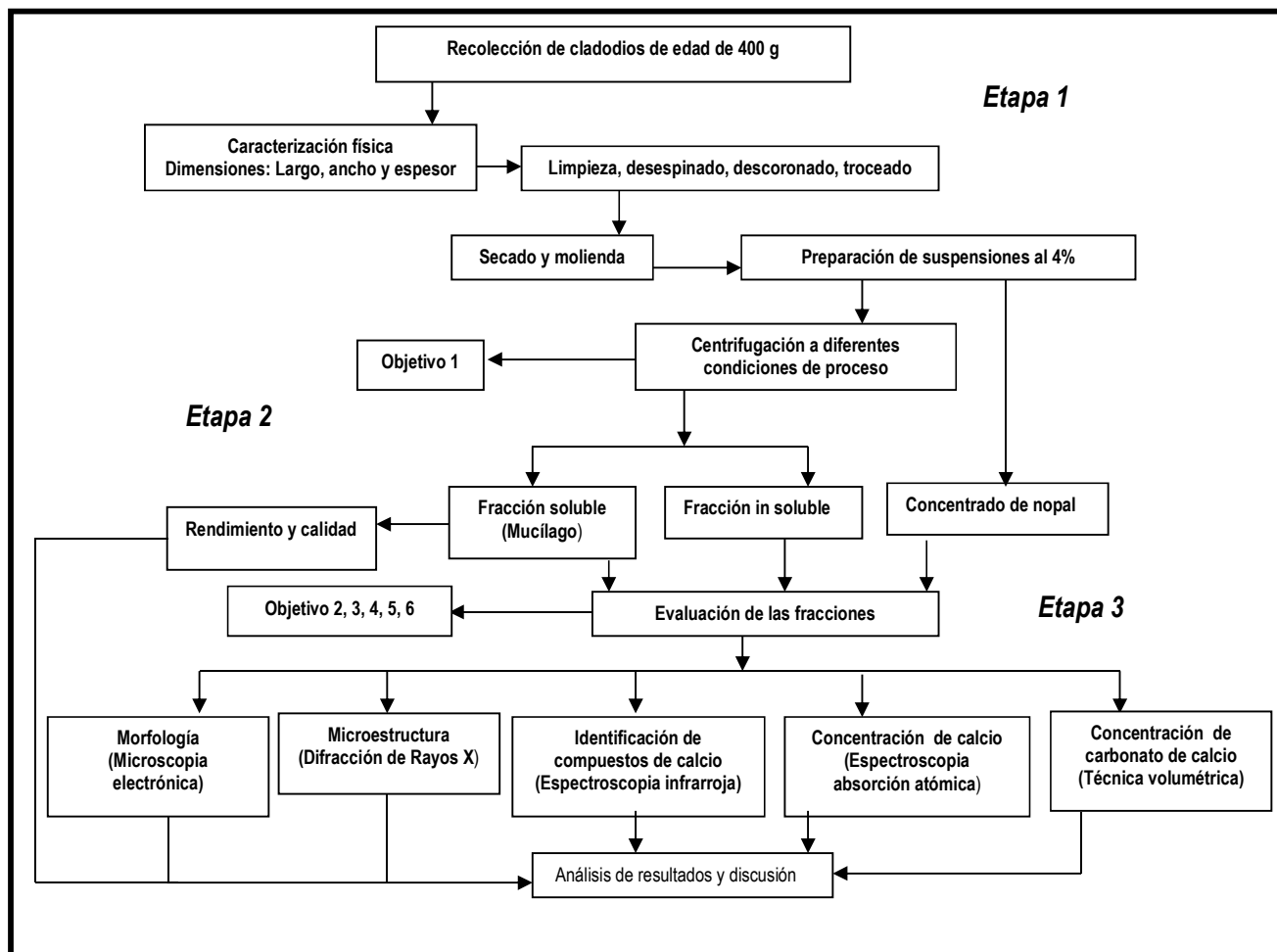


Figura 6. Cuadro de actividades del desarrollo experimental

Etapa 1 Descripción de actividades.

6.2 Recolección de cladodios de nopal

Los cladodios de nopal fueron recolectados en un rancho experimental ubicado en el Estado de Guanajuato (Rancho los Lores) el cual se muestra en la Figura 7. Los nopales fueron seleccionados de acuerdo al peso de 400 ± 10 g, que corresponde con un estado de maduración de 100 días en el cultivo aproximadamente. Cada uno de los nopales fue pesado en una balanza granataría digital Marca Ohaus, modelo VOB 120 para posteriormente acomodarse y trasladarse.



Figura 7. Rancho los Lores

Se observan cladodios o nopales de diferentes edades, de manera que la selección se facilitó ya que los tienen clasificados por parcela. La recolección se realizó manualmente. Los nopales después de cortados fueron cepillados con un instrumento de cerdas naturales para eliminar las espinas más pequeñas, después se colocaron en contenedores de reja de madera y se trasladaron a los laboratorios de la facultad de ciencias naturales UAQ.

6.3 Caracterización física de la materia prima

Para la caracterización física de los cladodios de nopal se llevó a cabo la medición del largo, ancho y espesor. Las mediciones se llevaron a cabo con una regla metálica de 30 cm. Para la determinación del espesor se utilizó un vernier digital, Marca Seteren Mul-100 y para pesarlos se empleó una balanza granataría digital Marca Ohaus, modelo VOB 120. Las unidades experimentales recolectadas se muestran en la Figura 8.

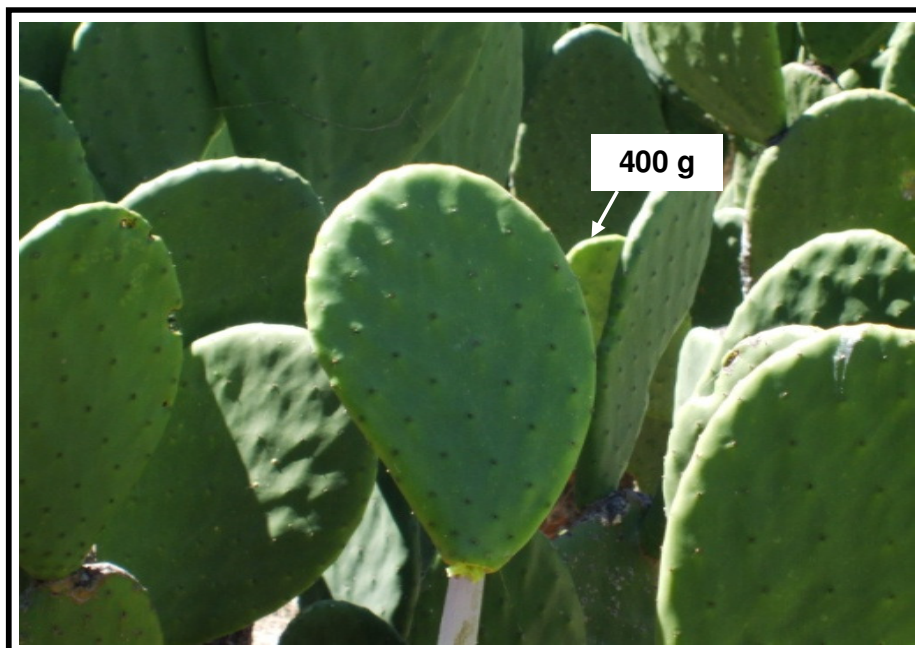


Figura 8. Nopales cortados de peso de 400 g

6.4 Limpieza y desespinado de los nopales

Cada uno de los nopales se lavo con agua corriente, se cepillaron para su limpieza y retirar polvo, después se escurrieron y se les retiraron las espinas restantes con la ayuda de un instrumento punzo cortante de acero inoxidable filoso (sacabocado) para evitar cortar el exceso de pulpa de acuerdo a lo que aparece en la figura 9.

El instrumento se incrustó y giró en cada una de las espinas ya que en estos estados de maduración son muy gruesas y están muy insertadas en el cuerpo del cladodio. Se muestra cómo se retiró la corona del nopal con un instrumento punzo cortante debido a que es la parte más dura y reseca del mismo, la Figura muestra la mayor parte de la corona retirada. El instrumento de acero inoxidable ubicado en la parte posterior de la Figura, es un molde con filo, que tiene la función de cortar en cuadros homogéneos a los cladodios de nopal para someterlos al secado. Las dimensiones de cada uno de los cuadros fueron de 2 x 2 cm.

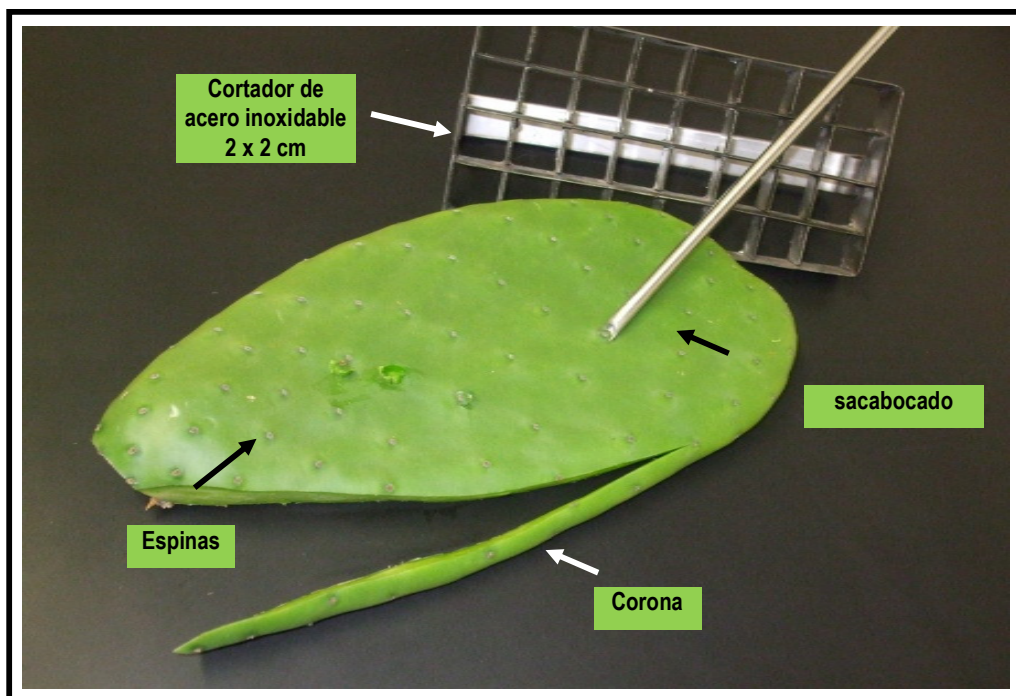


Figura 9. Retiro de corona y desespinado de nopales

6.5 Secado de nopal a 70 °C

Posteriormente, los nopales ya cortados en cuadrados homogéneos y abiertos para facilitar el secado, se acomodaron en las charolas de acero inoxidable. Éstas se colocaron dentro de una estufa de aire forzado Marca BG Didacta Italia modelo E102 de acuerdo a la figura 10 para ser deshidratados a 70 °C. Las tomas de las lecturas de temperatura se realizaron con un termómetro digital Marca Extech Instruments, modelo 42500, cada media hora. Previamente se caracterizaron las camas de la estufa para conocer su temperatura real.

La metodología utilizada para la deshidratación se planteó de acuerdo a lo reportado por Contreras-Padilla et al. (2011). Se llenaron todas las camas del equipo con 5.0 kg de muestra de nopales cortados de 100 días de maduración.



Figura 10. Deshidratado de nopal en estufa

6.6 Molienda de nopal

El nopal ya deshidratado se almacenó en frascos de cerrado hermético para evitar que absorbieran agua. Posteriormente, se redujo de tamaño en un molino de martillos estriado PULVEX 200. La restricción a la salida se llevó a cabo con una criba de 0.8 mm. Las velocidades de alimentación al molino fueron constantes a 10 g/s para todas las muestras molidas. Los sólidos granulares de nopales se almacenó en frascos de cerrado hermético como se muestra en la Figura 11.

El polvo se hizo pasar por un tamiz 60 USA. Este sirvió para preparar suspensiones con nopal deshidratado a la misma concentración de sólidos que tenían los nopales en fresco.

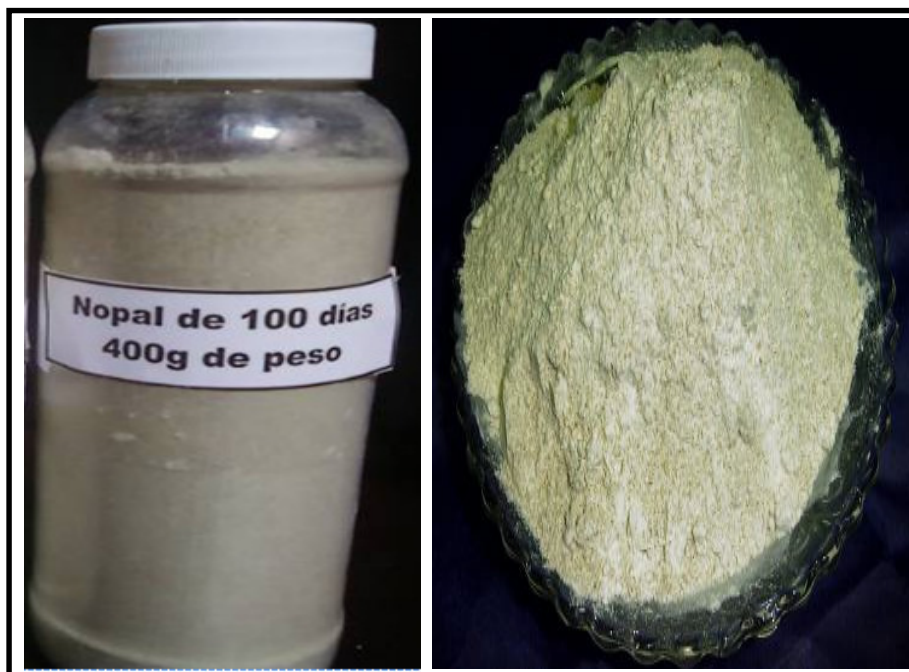


Figura 11. Nopal deshidratado con 100 días de maduración

Actividades para el objetivo específico 1

6.7 Determinación de concentración de humedad en nopal fresco

Para determinar la concentración de sólidos totales se utilizó una prueba indirecta con el método de humedad de la AOAC, 2000.

Se limpiaron y desespitaron los cladodios de nopal, posteriormente, se procedió a tomar algunos de ellos y a rebanarlos finamente con un instrumento punzo cortante de acero inoxidable.

En un molino de molienda húmeda Marca Osterizer modelo 10 Speed, se vertieron cierta cantidad de gramos de nopal y se molieron a la mínima velocidad sin adicionar agua. Después se fueron agregando otros nopales sin interrumpir la molienda, una vez que la muestra comenzó a soltar mucílago y hacerse viscosa, se fueron adicionando sucesivamente todos los nopales hasta llenar el vaso. Adicionalmente, se continuó la molienda a la máxima velocidad hasta que la pulpa quedó completamente homogénea en tamaño.



En tres charolas de aluminio puestas previamente a peso constante se pesaron en una balanza analítica marca OHAUS modelo E11140, 10 gramos de concentrado de nopal y con la ayuda de una espátula éste se esparció en toda la superficie de la charola. Las charolas se colocaron dentro de una estufa a 80 °C hasta llegar a un peso constante, para lo cual la muestra se pesó cada 20 min y se tomó su peso para conocer como perdía humedad.

Se obtuvo la humedad con la siguiente ecuación de manera indirecta, mediante el cálculo del porcentaje de sólidos totales en la pulpa de nopal.

$$\% \text{ Sólidos Totales} = \left(\frac{PCM_h - PCM_s - PC}{gM} \right) \times 100$$

Donde:

PCM_h = Peso de la Charola con Muestra húmeda

PCM_s = Peso de la Charola con Muestra seca

PC = Peso de la Charola

gM = gramos de Muestra

Esta determinación reporta la cantidad de sólidos totales en nopales en fresco con la finalidad de preparar suspensiones con polvo de nopal deshidratado a la misma concentración.

Etapas 2 Descripción de actividades

Obtención de las fracciones (insoluble y soluble).

6.8 Preparación de suspensión con nopal deshidratado

Se prepararon 5 litros de suspensión de nopal deshidratado al 4% para cada corrida experimental. Las suspensiones se prepararon siguiendo la metodología de Paredes (2011). El polvo de nopal se mezcló con el agua utilizando un homogeneizador marca IKA-WERKE modelo EUROSTAR BSC.S1. El equipo fue operado a 450 rpm durante 20 min. El polvo se fue



vaciando poco a poco para que se fuera incorporando sin formar grumos. La suspensión se dejó reposar durante cuatro horas en un recipiente para la mejor hidratación de los sólidos granulares de nopal.

En el cuadro 4 se muestran las variables independientes y sus niveles con los cuales se trabajaron. En el caso de la velocidad de giro los niveles de variación quedaron muy cercanos, la razón se debe a que con valores más bajos, la fracción soluble salía contaminada y con baja calidad de clarificado (pruebas preliminares realizadas). En cuanto a las velocidades de alimentación, por la viscosidad del material localizado en el tanque de alimentación a centrifugar, se requirió de un mezclado durante la centrifugación.

Cuadro 4. Factores independientes y sus niveles de variación trabajados

Factor independiente	Niveles de variación
A) Velocidad de alimentación (mL/min)	200, 400, 600
B) Velocidad de giro (rpm)	7000, 7500, 8000
C) Altura del tornillo fase ligera (mm)	0, 2, 4

Control de los niveles de los factores independientes:

-Factor A (velocidad de alimentación o flujo volumétrico de entrada), 200 mL/min abertura de la válvula $\frac{1}{2}$ vuelta, para 400 mL/min abertura de la válvula vuelta completa, para 600 mL/min $1 \frac{1}{2}$ vuelta).

-Factor B (velocidad de giro de la centrifuga), se varió con el tablero de control a 7000, 7500 y 8000 rpm. Una vez que la centrífuga alcanzó la velocidad de 7000 rpm comenzó la corrida y así sucesivamente con el resto de las velocidades.

-Factor C (altura de tornillo de restricción de la fracción soluble), se varió modificando la altura del tornillo de gravedad para 0 mm completamente cerrado, para 2 mm y para 4 mm de altura respectivamente.



Las variables o factores dependientes se muestran en el cuadro 5. Estas variables se seleccionaron en base a ciertos criterios para definir la calidad del mucílago obtenido a las diferentes condiciones de centrifugación trabajada.

En lo que respecta al parámetro de color, entre más bajo éste, más parecido será al agua y representa la obtención de un buen clarificado, por lo tanto el agua se tomó como patrón para esta característica.

-En términos de densidad y de sólidos totales, entre más altos sean los valores, se indica que el clarificado está contaminado.

-El rendimiento del mucílago se determinó por la cantidad de gramos base seca obtenida por gramo de nopal utilizado.

-El tiempo de residencia se determinó por el tiempo que permaneció el material dentro de la centrífuga. Se cuantificó, desde el momento que entró la primera gota, hasta que salió la última. Durante este tiempo se obtuvo la energía consumida de la operación mediante un multímetro de gancho para cuantificar los amperes consumidos.

Cuadro 5. Factores dependientes para evaluar rendimiento y eficiencia.

Factor dependiente	Unidades
Volumen de recolectado (fracción soluble)	(mL)
Tiempo de residencia (suspensión)	(min)
Densidad (fracción soluble)	(g/cm ³)
Turbidez (fracción soluble)	(NTU)
Sólidos totales (fracción soluble)	(g)
Color (fracción soluble)	(L)
Rendimiento de mucílago*	(mg _n /g _m)

**Cantidad de mucílago seco en gramos de nopal deshidratado*

6.9 Centrifugación de suspensiones de nopal a diferentes condiciones

Una vez ensamblada la centrífuga y después de las 4 h de reposo, la suspensión se colocó en el tanque de alimentación, se introdujo la propela del homogenizador y se mezcló la suspensión a 450 rpm durante el tiempo en que



se centrifugaba en una centrífuga de discos Marca Didacta Italia, Modelo TAG1/d (Figura 12a). La velocidad de giro de los discos se aumentó poco a poco en el panel de control hasta alcanzar la de 7000 rpm, en ese momento se abrió la válvula de alimentación de acuerdo a las condiciones anteriormente mencionadas, e inició la corrida experimental, primero se llenó el tazón y luego comenzó a salir la fracción soluble como se muestra en la Figura 12b. La fracción soluble salió por los anillos de gravedad y por la tolva superior de la centrífuga. Se puede apreciar la fracción soluble escurriendo hacia el recipiente.

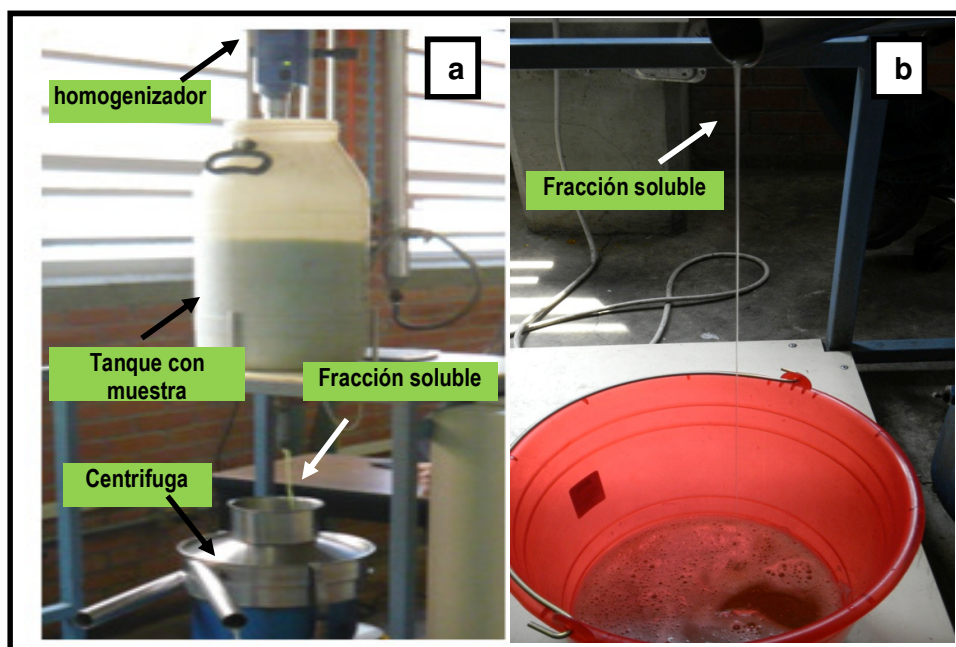


Figura 12. Centrifuga de discos. a) Centrifugación de suspensión de nopal. b) fracción soluble

Al término de la operación de centrifugación el equipo se apagó y se retiraron sus partes. En el tazón se retienen los sólidos insolubles, los cuales se pueden apreciar en la Figura 13 (la fibra insoluble). La fracción insoluble se recolectó y se deshidrató a 70 °C, esta corresponde a una de las unidades experimentales que se analizó durante todo el trabajo.



Todas las suspensiones preparadas con diferentes muestras de nopal de 100 días de maduración, siguieron la misma metodología, pero variando las condiciones de centrifugación utilizadas a fin de establecer las mejores condiciones del proceso.



Figura 13. Fracción insoluble de nopal dentro del tazón de la centrifuga

Para cumplir el objetivo 1, se planteó la evaluación de la fracción soluble de las extracciones de mucílago de nopal de cada una de las corridas experimentales para determinar la calidad. Considérese a la eficiencia de separación como resultado de todas las pruebas que evidencian la pureza de la fracción soluble como las de volumen recolectado, densidad, sólidos totales, turbidez, color y tiempo de residencia. Así como al rendimiento que es la cantidad de mucílago obtenido por gramo de nopal utilizado.

a) Volumen recolectado de la fracción soluble (mL):

La cantidad de fracción soluble recolectada durante la operación de centrifugación, se vertió en una probeta de plástico graduada como la que se muestra en la Figura 14. Se cuantificó el volumen de salida de la fracción soluble para cada uno de los niveles de variación utilizados. El mayor volumen obtenido no fue necesariamente el de mayor calidad. Para todas las



suspensiones preparadas se utilizó la misma cantidad de agua destilada, a fin de que no fueran cuantificadas las sales comunes del agua potable.

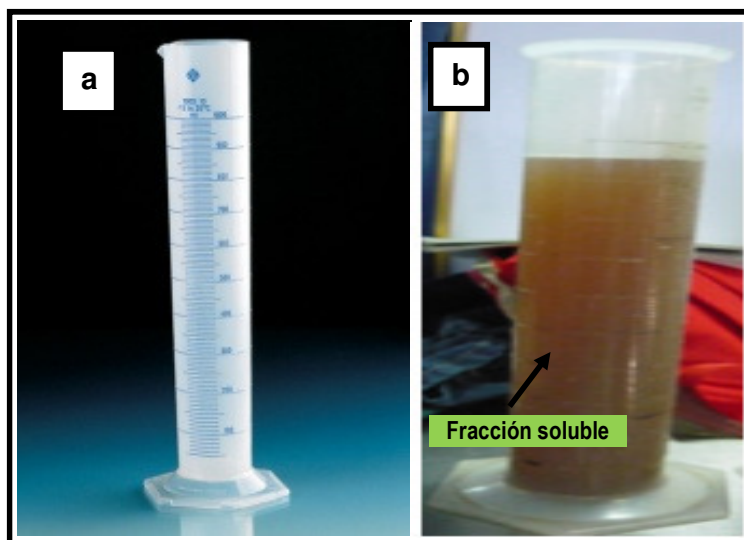


Figura 14. Separación de la fracción soluble. a) Probeta vacía, b) Volumen de la fracción soluble.

La fracción soluble fue evaluada para obtener la calidad, por lo que se tomaron muestras para todas las determinaciones. El resto de la fracción soluble se recolectó en un recipiente de cerrado hermético para ser precipitado con un solvente y posteriormente filtrado.

b) Tiempo de residencia (min):

El tiempo de residencia se determinó cuantificando con un cronometro Marca spigel, modelo 12-cdp al entrar la primera gota de suspensión de nopal deshidratado a la centrifuga, hasta la última gota de salida de fracción soluble.

c) Densidad del clarificado (fracción soluble) (g/cm³)

La determinación de la densidad de los clarificados, se llevó a cabo por la metodología de diferencia de peso en (g/cm³).

El procedimiento fue el mismo para todas las muestras y se llevó a cabo por triplicado: probetas de 10 mililitros limpias y secas (Figura 15a), previamente se



pusieron a peso constante en una estufa de aire a una temperatura de 50 °C. Se pesaron hasta que su peso no cambio y se conservaron en un desecador hasta su uso.

Las probetas se llenaron hasta donde marcaban 10 mL con la fracción soluble de cada una de las corridas realizadas de acuerdo a lo que muestra la figura 15 b y posteriormente, se pesaron (Figura 15 c).

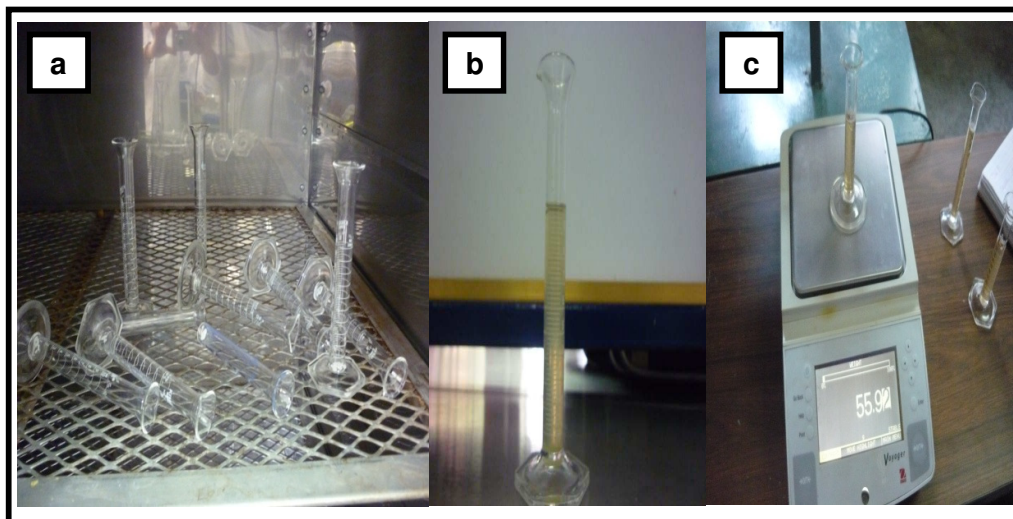


Figura 15. a) Probetas a peso constante; b) Llenado de probetas; c) Peso de probetas llenas.

Al peso obtenido anteriormente, se le restó el peso de la probeta vacía para así poder realizar el cálculo de la densidad respecto a la masa sobre el volumen.

Las ecuaciones empleadas para realizar los cálculos necesarios y así obtener la densidad de la fracción soluble (clarificado) se muestran a continuación:

Para obtener la masa de la fracción soluble se empleo la siguiente relación:

Masa de clarificado

$$= \text{Masa de probeta con clarificado} - \text{Masa de probeta vacía}$$

Una vez que se tiene la masa del clarificado o fracción soluble se procede a calcular la densidad mediante la siguiente ecuación:

$$\rho = \frac{m}{v} \quad \text{.....ec (1)}$$



Donde:

m = masa de clarificado o fracción soluble (g)

v = volumen de clarificado o fracción soluble (10 mL)

d) Turbidez del clarificado o fracción soluble

La medición de la turbidez se llevó a cabo con un Turbidímetro marca Hanna Instruments, modelo LP 2000, Carcat. Gral. Precision Bench Turbidity Meter como muestra la figura 16 a. La fracción soluble se vació en un vaso de precipitados de 100 mL (Figura 16 b); dicho procedimiento se llevó a cabo por triplicado para cada una de las fracciones solubles obtenidas a las diferentes condiciones de trabajo. Se calibró el turbidímetro con agua destilada, misma que fue utilizada para la preparación de las suspensiones. Una vez calibrado el equipo, la muestra se agitó previamente con un agitador de vidrio y se vació a la celda hasta llegar a la marca, procurando siempre sostenerla con tela de seda para evitar ensuciarla y alterar los resultados. Después de llenar la celda con la muestra, se cerró y se procedió a introducir la misma en el turbidímetro haciendo coincidir la marca de la celda con la del equipo como se aprecia en la figura 16 c.

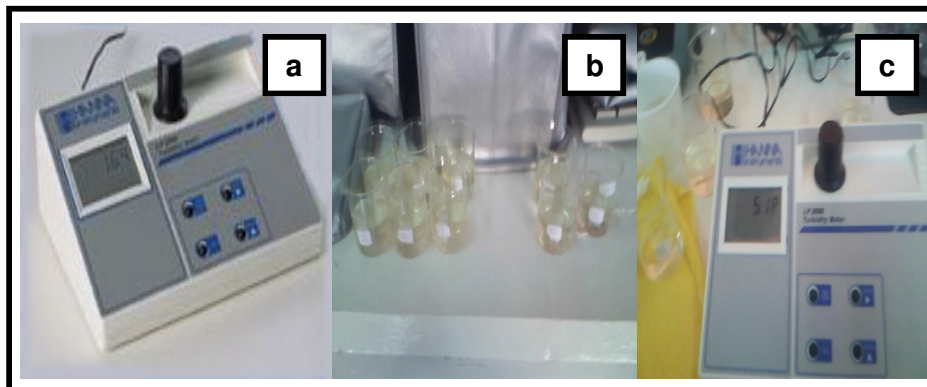


Figura 16. a) Prueba de turbidez; b) Muestras de mucílago obtenido a diferentes condiciones; c) Lectura de muestras.

El procedimiento anteriormente descrito se llevó a cabo para cada una de las diferentes mediciones de turbidez para medirla en unidades nefelométricas (NTU), las cuales indican la cantidad de luz que deja pasar la muestra en función de la cantidad de sólidos presentes.



e) Sólidos totales de la fracción soluble

La prueba de sólidos totales se realizó por un método indirecto. Se utilizó la determinación de humedad de la AOAC, 2000. Al eliminar la humedad quedaron los sólidos totales presentes en el clarificado después de la centrifugación, los cuales se reportaron en g. Se utilizaron charolas de aluminio, se pesaron, se pusieron previamente a peso constante en una estufa a 70 °C de acuerdo a la figura 17.

Se colocaron 10 mL de muestra de clarificado o fracción soluble y se secaron en una estufa de aire Marca BG Didacta Italia modelo E102, hasta que éstas alcanzaron peso constante.



Figura 17. Charolas con muestra de clarificado o fracción soluble

Con ayuda de unas pinzas las charolas fueron manipuladas. Se dejaron enfriar y se colocaron dentro de un desecador, las charolas se pesaron y los valores se utilizaron para los cálculos de los sólidos totales presentes en la fracción soluble.

La ecuación que se aplicó para las determinaciones fue la siguiente:

$$\% \text{ Sólidos Totales} = \left(\frac{P_{CCl_f} - P_{CCl_s} - PC}{gM} \right) \times 100 \dots \text{ec (2)}$$



Dónde:

$PCCl_f$ = Peso de la Charola con Clarificado fresco (g)

$PCCl_s$ = Peso de la Charola con Clarificado seco (g)

PC = Peso de la Charola (g)

gM = gramos de Muestra (g)

f) Luminosidad de la fracción soluble

Esta determinación se realizó utilizando un colorímetro Marca Minolta Sensor modelo CR-300, interface modelo Dp-30, el cual se muestra en las Figuras 18 a, 18 b y 18 c

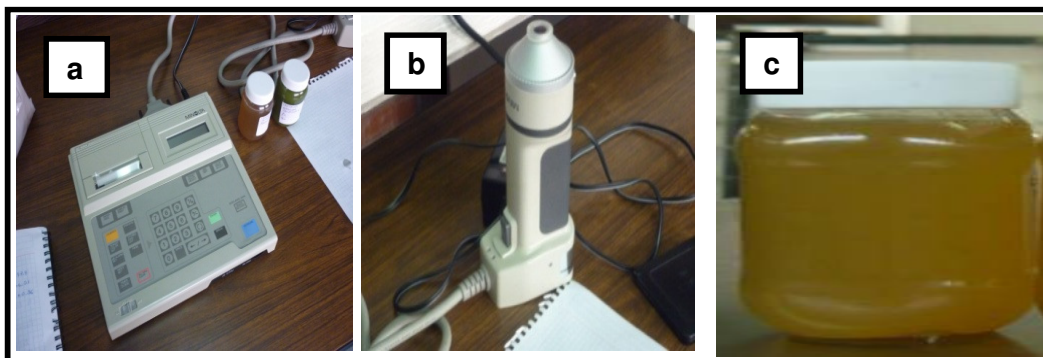


Figura 18. a) Colorímetro Minolta; b) Sensor; Figura c) Fracción soluble

La luminosidad de la fracción soluble influye en cómo es que se está llevando a cabo la centrifugación, ya que de acuerdo a la tonalidad de las suspensiones se puede decir si se trató de un proceso eficiente al separar la mayor cantidad de sólidos presentes contenidos en la suspensión.

Las muestras de fracción soluble presentan valores más altos de luminosidad ya que se van pareciendo a los del agua destilada (patrón).



El analizador del colorímetro se calibró con un mosaico blanco aplicando los parámetros del integrador y posteriormente se tomó la lectura de agua destilada la cual se tomo como referencia para la comparación.

El colorímetro de reflectancia registra la intensidad de luz absorbida por el color negro a la reflejada por el blanco (escala "L"), así como la descomposición de la luz en los colores básicos: la escala "a" va del rojo al verde y la "b" del amarillo al azul. En un recipiente que no dejará pasar la luz se colocaron 30 mL de clarificado y sobre ese líquido se colocó el brazo del colorímetro, se tomó la lectura de color del clarificado. Por último se evaluó la luminosidad. Cada una de las determinaciones se realizó por triplicado en corridas independientes, pero que corresponden a las mismas condiciones en que se operó la centrífuga.

En las figuras 19 a, 19 b y 19 c se muestran ejemplos de clarificados obtenidos a diferentes condiciones de operación de la centrífuga.

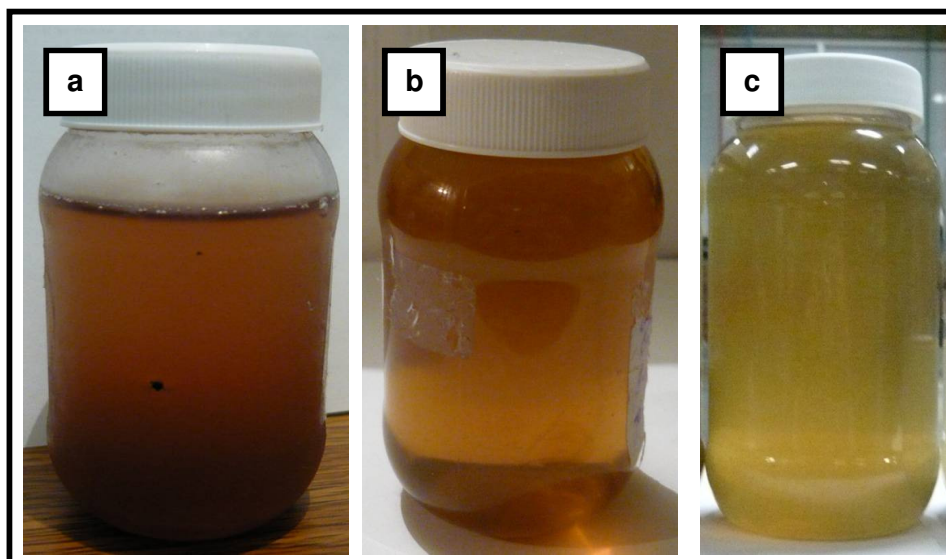


Figura 19. a) Fracción soluble obtenida a 7000 rpm; b) Fracción soluble obtenida 7500 rpm; c) Fracción soluble obtenida a 8000 rpm

Esta prueba se realizó a todos los clarificados obtenidos a las diferentes condiciones tomando como patrón el del agua destilada con valores de 88 en luminosidad. De manera que los valores cercanos fueron los que presentaron mejores características de calidad, es decir, dichos clarificados presentaron menor contaminación con sólidos de la fracción insoluble.



g) Precipitación del mucílago de la fracción soluble (rendimiento)

El rendimiento de mucílago es la cantidad de mucílago seco en gramos por gramo de nopal utilizado. A cada litro de clarificado se adicionaron 2 litros de etanol desnaturalizado con grado de pureza de 96 % (relación 1:2). El etanol se empleó para ayudar a que precipitara el mucílago que se encontraba en la fracción soluble. Al romperse los enlaces con el agua, el mucílago formó una red y se concentró todo, lo que facilitó su extracción por otro método de separación. La cantidad de agua-alcohol se eliminó del frasco que contiene la muestra y se procedió a efectuar una filtración a vacío en un embudo Büchner y un matraz quitazato a 30 mmHg para eliminar el exceso de agua-alcohol como se muestra en la Figura 20. Todo el líquido se dejó drenar, dejando el mucílago en el embudo hasta que escurriera toda la solución agua-alcohol. El tiempo total de la filtración fue de aproximadamente 5 min para cada prueba. Cabe mencionar que la cantidad de líquido obtenido fue distinto en cada una de las diferentes condiciones de centrifugación trabajadas.



Figura 20. Filtración del mucílago de nopal

Después de la filtración el mucílago se separó del papel y se colocó en charolas para llevar a cabo el deshidratado de las muestras en charolas de teflón para evitar que se pegarán a la superficie.



El mucílago obtenido se deshidrató a 80 kPa, 40 °C en una estufa de vacío, Marca Barnstead International, modelo 3618, durante 35 min, hasta llegar a una humedad del 4 %. Una vez seco, el mucílago se pesó en una balanza analítica Marca Ohaus, modelo VOB 120, para obtener la cantidad de gramos de mucílago deshidratado por muestra. Con los resultados de polvo de nopal deshidratado y mucílago de nopal obtenido se calculó el rendimiento (gramos de mucílago / gramo de polvo de nopal x 100).

6.10 Análisis estadístico

El análisis que se aplicó a los datos obtenidos fue un factorial 3^3 con tres factores y tres niveles para conocer cuál de ellos tiene mayor influencia y las interacciones entre ellos, dicho análisis se llevó a cabo en el programa estadístico MINITAB 14.

En el cuadro 6 se presenta el resumen del diseño factorial multinivel que da el programa estadístico MINITAB.

Cuadro 6. Resumen de factores del diseño factorial

Factores: 3	Replicas: 3
Corridas base: 27	Total de corridas: 81
Bloques base: 1	Total de bloques: 1
Número de niveles: 3; 3; 3	

Fuente: (Montgomery and Runger, 1999)

En el cuadro 7, se presenta el arreglo de los niveles de variación y variables. El arreglo se da como un número de serie, en donde el primer número indica la velocidad de giro, el segundo la velocidad de alimentación y el tercer dígito la altura de tornillo. La letra **S** al inicio indica la palabra serie. Se muestra el arreglo solamente de las combinaciones entre todos los factores con sus diferentes niveles cada uno, es decir las corridas base, aunque el total de corridas fueron de 81.



Cuadro 7. Variables y niveles para la centrifugación

Serie	Velocidad de giro (rpm)	Velocidad de alimentación (mL/min)	Altura de tornillos de gravedad (mm)
S720	7000	200	0
S740	7000	400	0
S760	7000	600	0
S722	7000	200	2
S742	7000	400	2
S762	7000	600	2
S724	7000	200	4
S744	7000	400	4
S764	7000	600	4
S7520	7500	200	0
S7540	7500	400	0
S7560	7500	600	0
S7522	7500	200	2
S7542	7500	400	2
S7544	7500	600	2
S7524	7500	200	4
S7544	7500	400	4
S7564	7500	600	4
S820	8000	200	0
S840	8000	400	0
S860	8000	600	0
S822	8000	200	2
S842	8000	400	2
S862	8000	600	2
S824	8000	200	4
S844	8000	400	4
S864	8000	600	4

Nótese que son tres variables o factores con tres niveles cada una de ellas que se trabajaron experimentalmente.



ETAPA 3 Evaluación de las fracciones de nopal

Actividades objetivo particular 2

Morfología por Microscopia electrónica de barrido al alto vacío (SEM-AV)

La tercera etapa del trabajo consistió en la identificación y caracterización química de los compuestos de calcio, presentes en estas diferentes fracciones obtenidas, mediante técnicas espectroscópicas como difracción de rayos X (DRX), microscopia electrónica de barrido a alto vacío (SEM- AV), espectroscopia de Infrarrojo (IF) y espectroscopia de absorción atómica (EAA). También se realizaron determinaciones volumétricas de compuestos de calcio en cada fracción para la cuantificación de carbonato de calcio.

Se caracterizó el concentrado de nopal, la fracción soluble (mucílago) y la fracción insoluble por microscopia electrónica de barrido de alto vacío para conocer su morfología.

6.11 Identificación de sales de calcio en las diferentes fracciones obtenidas: concentrado de nopal, fracción insoluble y fracción soluble (mucílago).

Esto permitió conocer la morfología de las sales de calcio presentes en cada una de éstas. Para esto, las muestras se colocaron en un porta muestra de bronce adheridas con cinta de carbón electro conductiva, con el fin de que la emisión de electrones fuese continua dentro del microscopio, se introdujeron en el microscopio electrónico de barrido a alto vacío (JEOL, modelo JSU-5600 AV) con la finalidad de obtener las micrografías de las muestras a diferentes ampliaciones. También se observó al microscopio los patrones comparativos carbonato de calcio, citrato de calcio y oxalato de calcio, para conocer su morfología. Adicionalmente, se obtuvo el análisis elemental de cada una de las fases evaluadas por medio de esta técnica.

Los portamuestras de bronce se limpiaron para retirar impurezas (Figura 21 a). Las muestras se colocaron en un porta muestra de bronce adheridas con cinta de carbón electro conductiva (Figura 21 b), con el fin de que la emisión de



electrones fuera continua dentro del microscopio (Arenas, 1999). A las muestras se les dio, un baño de oro para su deshidratación de acuerdo a la figura 21 c para montarlas en un porta muestras de aluminio para cuatro unidades como el de la figura 21 d, se ajustaron los porta muestras en el soporte del microscopio como se ve en la Figura 21 e y finalmente fueron observadas a diferentes aumentos en una computadora (Figura 21 f).

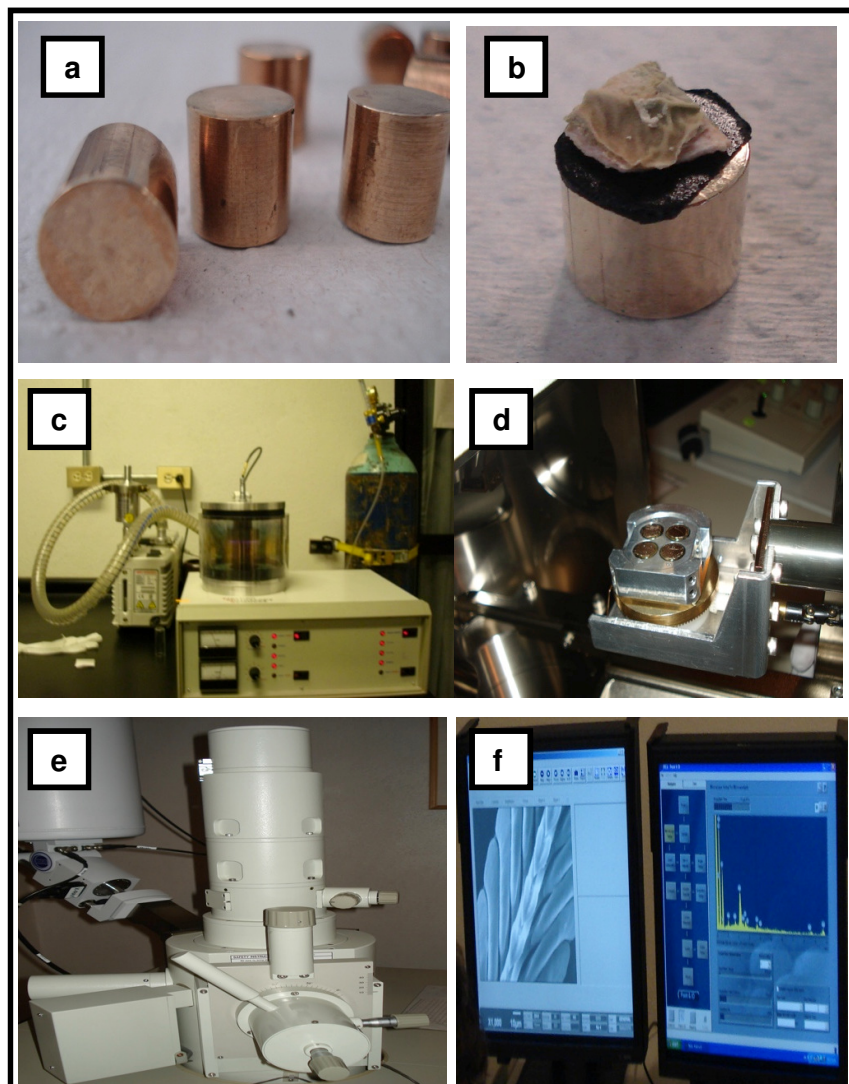


Figura 21. Montaje para observar la morfología de las fracciones de nopal; a) Portamuestras de bronce; b) Portamuestras con muestra pegada; c) Baño de oro a las muestras; d) Portamuestras en el carro en el interior del microscopio; e) microscopio electrónico; f) captura de las micrografías en la computadora.



Las primeras muestras que se observaron fueron los patrones o sales puras de calcio de Sigma-Aldrich: carbonato de calcio, oxalato de calcio y citrato de calcio. Después de observar su morfología de las sales, se procedió a observar la suspensión de nopal, la fracción soluble (mucílago), la insoluble y finalmente el análisis elemental de cada una de las muestras. Este se realizó ubicando en una muestra el cursor y se solicitó la identificación de compuestos presentes.

Actividades objetivo particular 3

6.12 Difracción de rayos X (DRX) identificación de sales de calcio y microestructura de las fracciones de nopal.

Las pruebas de difracción de rayos X, se realizaron para conocer la microestructura de las partes del nopal, fracción insoluble y mucílago, así como para identificar las sales presentes en cada una de las muestras analizadas. Estas pruebas se realizaron en un difractómetro de polvos (Siemens, modelo D 5000), las condiciones de operación fueron: a 35 kv y 15 mA, con una radiación de $\text{CuK}\alpha$, con longitud de onda $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$. El software empleado para el espectro de las determinaciones por muestra de análisis fue (Difracción/AT, SOCAVIN VI.2.) Las muestras de fase insoluble y mucílago fueron deshidratadas a $40 \text{ }^\circ\text{C}$ a 80 kPa , en una estufa de vacío, Marca Barnstead International, modelo 3618, durante 35 min hasta que alcanzaron una humedad del 4 %. Los sólidos granulares de nopal (Figura 22 a) y las fracciones molidas se hicieron pasar por un tamiz 60 USA, se pesaron y se recolectó un gramo (Figura 22 b), Las muestras se colocaron en el porta muestras del equipo, la muestra se comprimió para llenar los espacios vacíos como aparece en la Figura 22 c, después se introdujo la cámara del difractómetro de rayos X (Figura 22 d), de esta manera se obtuvieron los difractogramas de las muestras para conocer la estructura de las partes que integran al nopal. Este mismo procedimiento se realizó con los patrones de calcio (sales de calcio) de alto grado de pureza, esto con el fin de analizar si estos compuestos se encontraban en alguna de las fracciones. La determinación de rayos X, permitió explicar si las estructuras eran cristalinas o amorfas e identificó el tipo de compuestos de calcio presentes en cada una de las fracciones obtenidas de nopal.

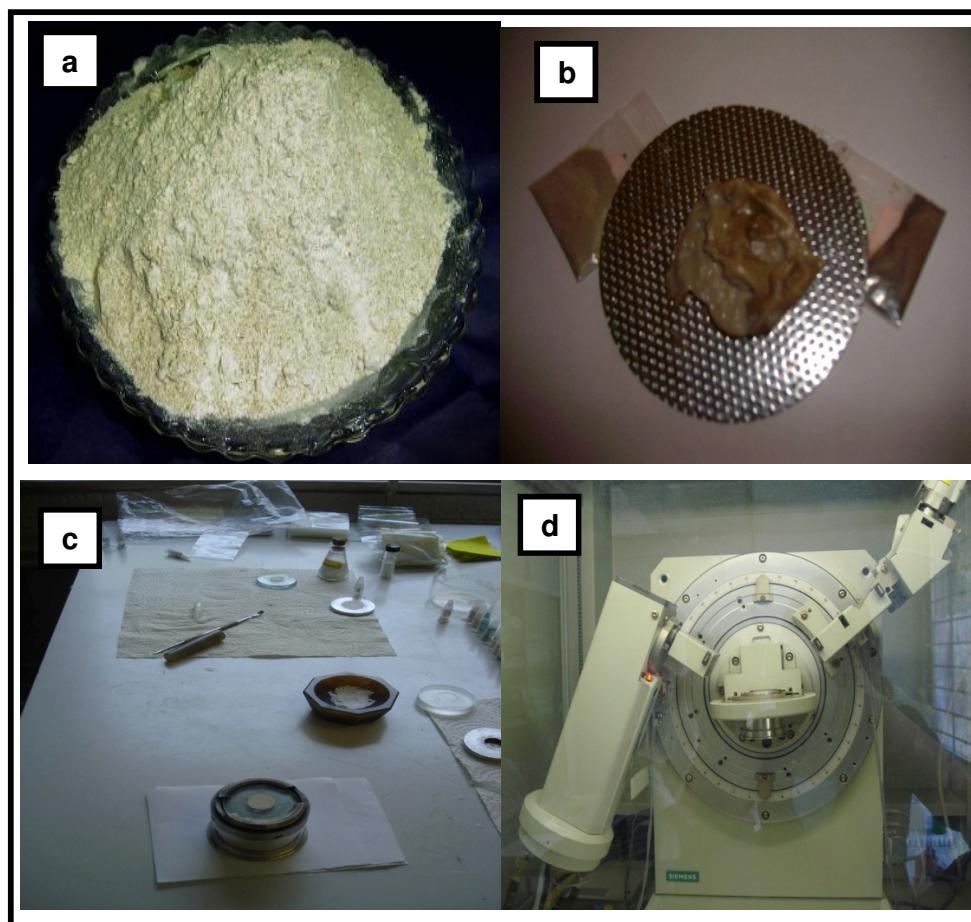


Figura 22. Montaje para difracción de rayos X; a) Nopal deshidratado; b) Fracción soluble e insoluble de nopal deshidratado; c) Portamuestras de difractometro; d) Difractometro de rayos X

Actividades objetivo particular 4

6.13 Espectroscopia infrarroja (IR) para identificar sales de calcio de las fracciones de nopal.

Las pruebas de espectroscopía de infrarrojo se realizaron para identificar la presencia de cristales de calcio. En un mortero de Agata se molieron cristales de KBr (Figura 23 a), los cuales sirvieron de matriz para soportar las muestras a evaluar. Posteriormente, se le adicionó la muestra en polvo de nopal, fracción insoluble y mucílago previamente pasada por la malla 60 USA. En el mismo mortero se mezcló homogéneamente el KBr con la muestra como muestra la



Figura 23 b), esta mezcla se vació a un portamuestra (Figura 23 c), aplicándole un fuerza de 15 Kg/cm^2 mediante una prensa de trabajo, modelo PHB-15 de la marca Kels (Figura 23 d), esto con el fin de obtener una pastilla con un espesor no mayor a 3 mm. Una vez obtenida la pastilla, esta se colocó y se sostuvo en el portamuestra del equipo de infrarrojo para que no se desprendiera durante la medición. El equipo de Infrarrojo marca Bruker, modelo Vector 33 se encendió y se inició el análisis (Figura 23 f).

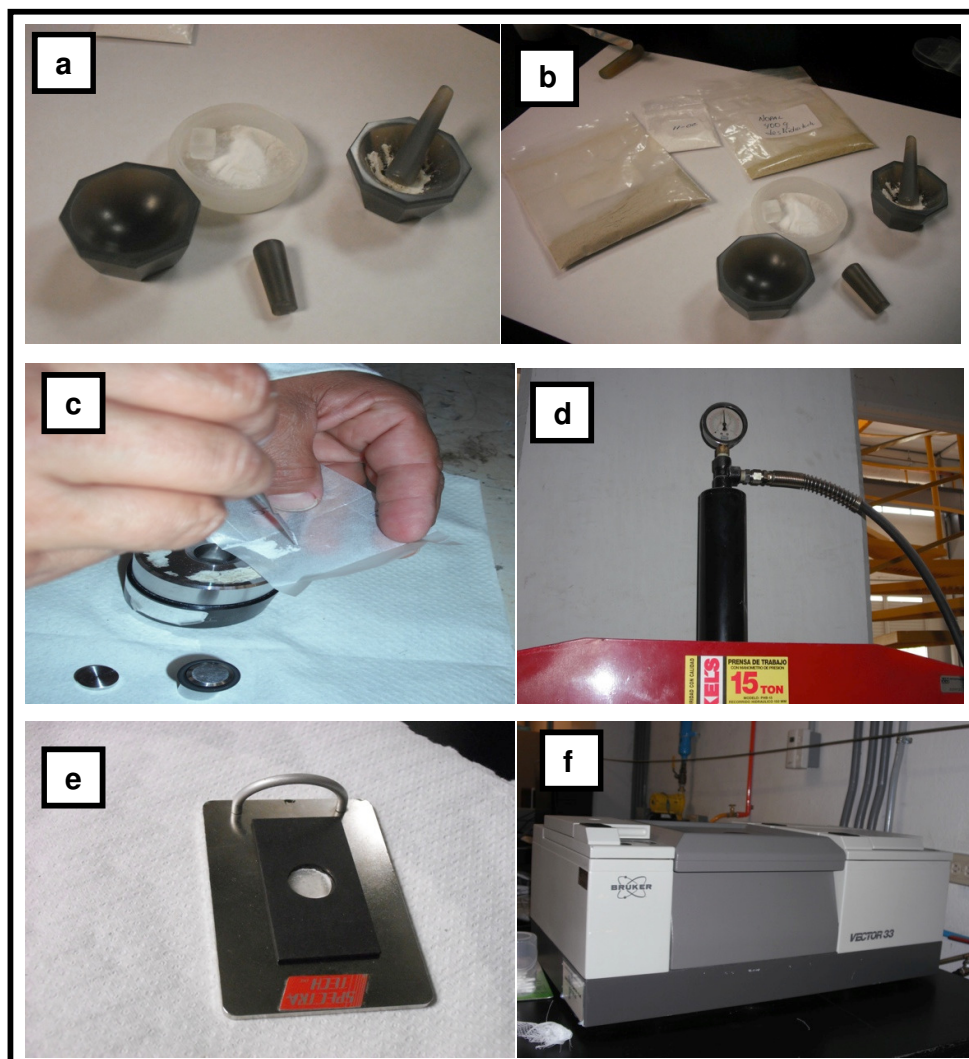


Figura 23. Montaje para lectura en infrarrojo; a) Morteros de ágata con KBr; b) Mortero con KBr y muestra; c) portamuestra; d) manómetro; e) Película o pastilla; f) Equipo de infrarrojo marca Bruker.



Se hicieron tabletas de muestras de nopal, fracción insoluble y mucílago. Posteriormente, se obtuvieron los espectros en infrarrojo de cada una de las muestras, incluyendo las de las muestras patrón de carbonato de calcio, citrato de calcio y de oxalato de calcio.

Actividades objetivo particular 5

6.14 Espectroscopia de absorción atómica (EAA) para determinar la concentración de calcio en las fracciones de nopal

Se determinó la concentración de calcio en cada una de las muestras a evaluar (nopal deshidratado, fracción insoluble y mucílago), mediante un espectrofotómetro de absorción atómica de doble haz (Analyst 300, Perkin Elmer, USA) equipado con una lámpara de deuterio de cátodo hueco con corrector de fondo. Las determinaciones se realizaron por triplicado para todas las unidades experimentales de acuerdo a la metodología de la AOAC, (2000). Se pesaron en un balanza analítica Marca Ohaus, 0.25 g de cada muestra (Figura 24 a) en los vasos de teflón (CEM, modelo, PFA-LV), agregando 10 mL de ácido nítrico dentro de una campana de extracción (Figura 24 b). Hasta que la muestra dejó de hacer burbujas y fue transparente. Se taparon sellándolas herméticamente. A fin de continuar con la digestión. Posteriormente, se colocaron los vasos de teflón dentro del carrusel y se introdujeron al horno de microondas (CEM, modelo MDS 81D) (Figura 24 c), el cual se programó a tres rampas de calentamiento: la primera, de temperatura ambiente hasta 130 °C en 4:30 min, la segunda de 130 °C, hasta 150 °C en 4.0 min y la última de 150 a 175 °C en 4.0 min, manteniendo una isoterma a la temperatura constante durante 15 minutos (Rodríguez-García et al., 2007). Por último, las muestras se dejaron enfriar, se filtraron y se les adicionó 1mL de óxido de lantano, se aforaron a 100 mL con agua tridestilada (Figura 24 d). También se preparó la curva con el estándar de calcio para calibrar y se colocó la lámpara de cátodo hueco para leer Ca en el equipo, la lectura se realizó con las muestras previamente diluidas, y se colocaron en un vaso de precipitado para introducir al nebulizador. Las muestras se leyeron en un equipo de espectroscopia de absorción atómica de flama utilizando como gases aire-acetileno para producir



la flama, se eligió una longitud de onda de 422.7 nm característica del calcio como se aprecia en la Figura 24 e).

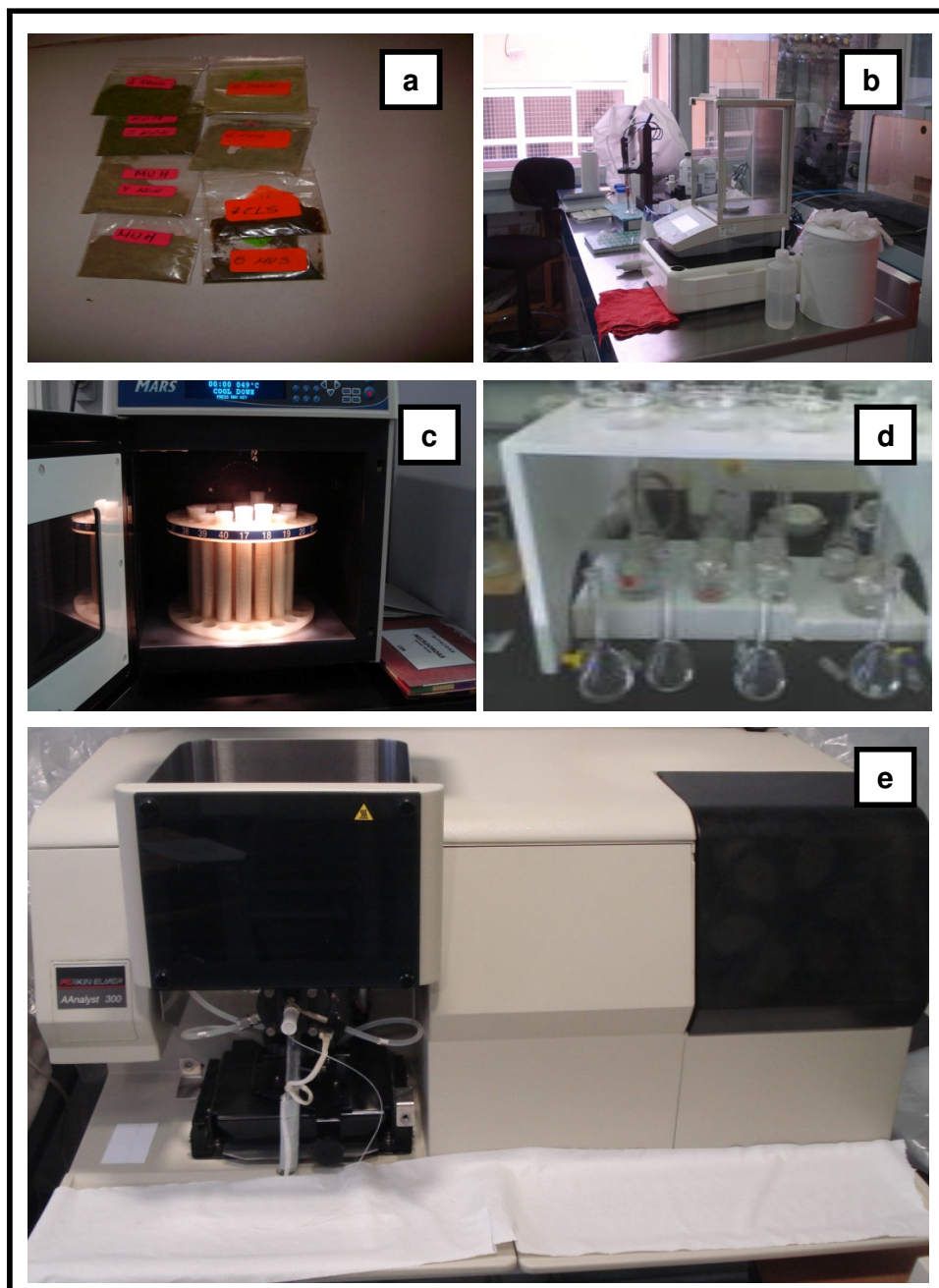


Figura 24. Montaje para determinación de calcio por espectroscopia de absorción atómica; a) Muestras de nopal, fracción insoluble y mucílago; b) Balanza analítica; c) Carrusel con muestras en el digestor; d) Filtración aforo y adición de oxido de lantano; e) Espectrofotómetro de absorción atómica.



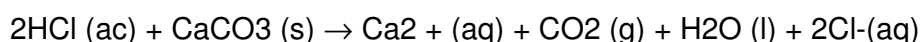
El porcentaje de absorción registrado por el detector fue una medida de la concentración del elemento de la muestra.

Las condiciones en que se operó el equipo fueron: aire 12 psi, flama 422.7 nm, lámpara de uso corriente 10 mA y corte de ancho 0.7 nm, se obtuvo el porcentaje de calcio fijado para cada tiempo y temperatura.

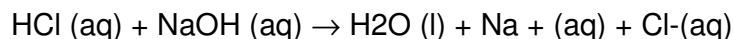
Actividades objetivo particular 6

6.15 Técnica volumétrica y colorimétrica para determinar la concentración de carbonato de calcio en las muestras en las fracciones de nopal

Este análisis se realizó mediante el uso volumétrico de una reacción característica de los compuestos de carbonato, a saber, su reacción con ácidos. El carbonato de calcio (piedra caliza) es muy insoluble en agua pura, pero se disuelve fácilmente en ácido, según la reacción



Esta reacción no puede ser utilizada directamente para valorar el CaCO_3 porque es muy lenta cuando la reacción está cerca de la variable. En lugar de la determinación se logra mediante la adición de un exceso de ácido para disolver todo el CaCO_3 y luego titulando el restante + H_3O con solución de NaOH para determinar la cantidad de ácido que no ha reaccionado con el carbonato de calcio. La diferencia entre la cantidad del ácido (HCl) inicialmente añadido y la cantidad que queda después de la reacción es igual a la cantidad utilizada por el CaCO_3 . La reacción utilizada para determinar el ácido sobrante es:



El contenido de CaCO_3 se determinó de acuerdo al método descrito por Mc Murry. (2004), el cual se describe a continuación:

La figura 25 muestra el montaje experimental de la determinación



-
- Se estandarizó la solución de NaOH para determinar CaCO_3 .
 - Se seco el biftalato de potasio (Figura 25 a) en una estufa a 50°C durante dos horas para asegurar su contenido de agua.
 - Se preparó una solución con agua tridestilada de NaOH 1N (Figura 25 b).
 - Se calcinaron las muestras de nopal deshidratado, fracción insoluble y de fracción soluble (mucílago) como muestra la Figura 25 c.
 - Se pesaron 500 mg de muestra en un matraz erlenmeyer en una balanza analítica y se agregaron 50 mL de agua tridestilada (hervida para eliminar minerales y filtrada). Se agregaron 10 gotas de etanol a cada matraz, este como un agente humectante y ayuda al ácido clorhídrico disolver el CaCO_3 (Figura 25 d). Con una pipeta volumétrica de 10 mL se le agregó 10 mL de HCl 1M. Los matraces se sometieron a agitación constante por 5 min. Posteriormente, se calentaron los matraces hasta ebullición y se dejaron enfriar. Se adicionaron de 3 a 4 gotas de indicador de fenolftaleína a cada matraz. Se realizó el llenado de una bureta con solución titulante de NaOH 0.1 Molar y lentamente se adicionó a cada matraz con agitación constante (Figura 25 e).

La adición del titulante se realizó hasta el vire de la solución incolora a rosa hasta que esta coloración permaneciera al menos 30 segundos (Figura 25 f).

-Peso del biftalato de potasio (El valor obtenido en la titulación) (meq de biftalato de potasio= 0.20422g.)

-Se obtuvo el promedio de los dos valores y el número resultante se uso en el cálculo para sacar el % de Carbonato de Calcio.

-Cálculo para obtener porcentaje de Carbonato de Calcio (CaCO_3)

$$\frac{\text{ml gastados} (\underline{1L})}{1000 \text{ ml}} = R_1L$$

$$1000 \text{ ml}$$



Moles de HCL remanentes= $(V \text{ NaOH lt}) (M \text{ NaOH (mol)})$ aquí va el promedio
obtenido) = $(\frac{R_1 \text{ lt}}{Lt}) (\text{Valor obtenido del análisis de NaOH (mol)}) = R_2 \text{ mol}$

Moles de HCL reaccionaron= moles de HCL totales - $R_2 \text{ mol} = 0.01 \text{ moles HCL}$
- $R_2 \text{ mol} = R_3 \text{ mol}$

Moles de CaCO_3 = moles de HCL reaccionaron ($R_3 \text{ mol}$) $(\frac{1 \text{ mol CaCO}_3}{2 \text{ mol HCL}})$

= $R_4 \text{ mol CaCO}_3$

% de $\text{CaCO}_3 = (\frac{R_4 \text{ mol CaCO}_3 \times 100 \text{ }^{1\text{g/mol}}}{\text{Peso de la Muestra}}) \times 100 = R_5 \% \text{ de CaCO}_3$

-Se Calculó el número de moles de ácido clorhídrico añadido a cada muestra.

-Para cada titulación, se calculó el número de moles de ácido clorhídrico a la izquierda en cada muestra después de la reacción con CaCO_3 .

-Para cada muestra, se determinó el número de moles de ácido clorhídrico que ha reaccionado con CaCO_3 tomando la diferencia entre los moles de ácido clorhídrico añadidos y los moles de ácido clorhídrico que queda después de la reacción es completa.

- Se utilizó la estequiometria de la reacción para calcular el número de moles de CaCO_3 en cada muestra.

- Se Calculó el porcentaje de masa de CaCO_3 presentes en cada muestra.

-Se Calculó el valor medio y la desviación estándar de los resultados.

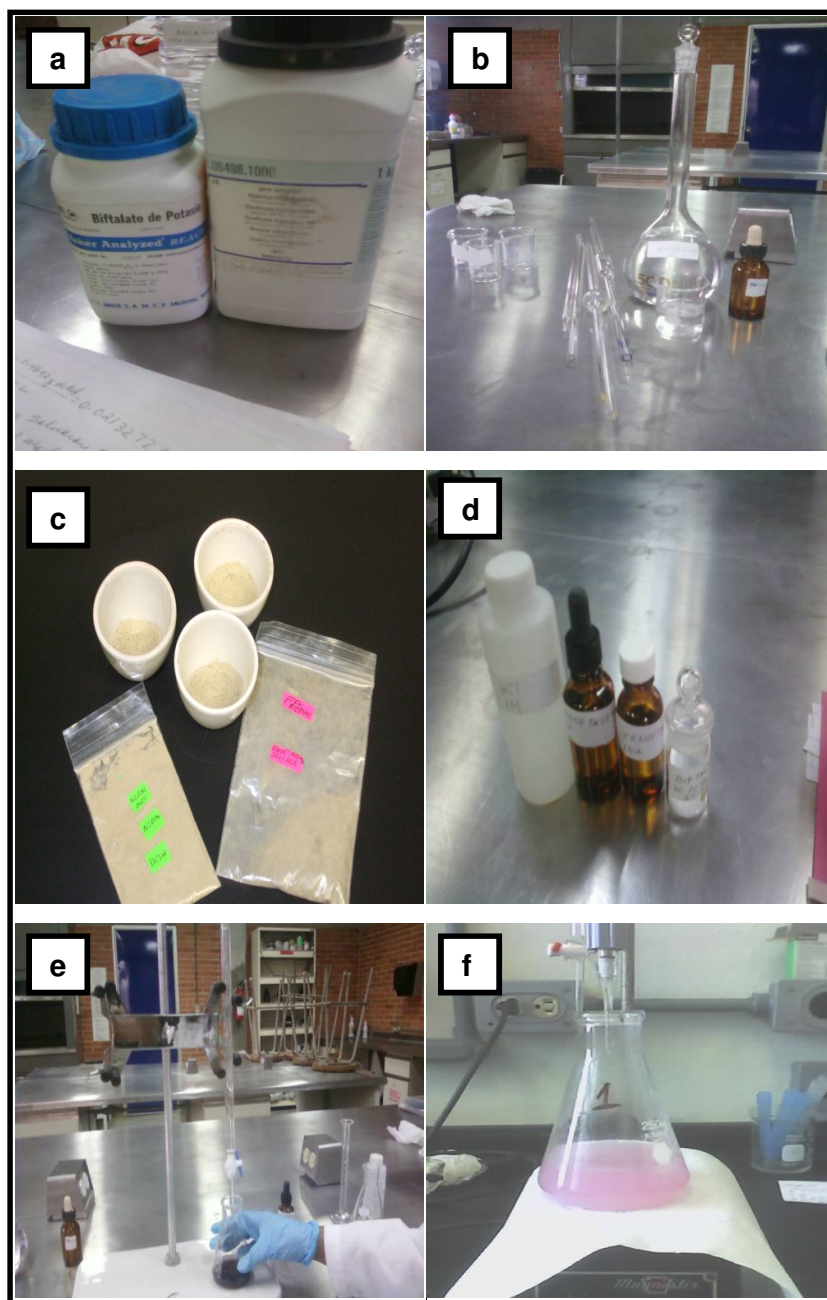


Figura 25. Montaje para determinación de carbonato de calcio por técnica colorimétrica; a) Reactivos utilizados (bifalato de potasio); b) Preparación de una solución de NaOH; c) Calcinación de las muestras de nopal deshidratado, fracción insoluble y mucílago; d) Adición de gotas de etanol; e) Adición de lenta de la solución titulante de NaOH 0.1 M con agitación constante; f) Vire de la solución incolora a rosa.



VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contrastación de la hipótesis experimental

La contrastación de la hipótesis se realizó mediante la ejecución de las actividades planteadas para cada uno de los objetivos, las cuales se explicaron detalladamente en el capítulo de metodología. Acorde con el orden de ese capítulo, se presentan en primer término los datos obtenidos de la caracterización de la materia prima, en seguida aparecen los resultados del objetivo 1, que corresponden a establecer las mejores condiciones de extracción de la fracción soluble con la mayor eficiencia y calidad en una centrifuga de discos. Posteriormente, se muestran los resultados de las actividades del objetivo 2, donde se caracterizaron morfológicamente algunas sales de calcio y las fracciones de nopal para identificar sus respectivas sales de calcio presentes. Se utilizó un microscopio electrónico de barrido a alto vacío para obtener las micrografías. También se presentan los resultados del objetivo 3, correspondientes a la microestructura del nopal deshidratado, fracción insoluble y fracción soluble (mucílago) mediante la técnica de difracción de rayos X. Las actividades del objetivo 4 permitieron identificar cualitativamente los compuestos de calcio presentes en el concentrado de nopal, fracción insoluble, fracción soluble (mucílago) mediante espectroscopia Infraroja. En el objetivo 5 se cuantificó la concentración de compuestos de calcio total en el concentrado de nopal, fracción soluble (mucílago) e insoluble, mediante espectroscopia de absorción atómica. Finalmente, el objetivo 6 del calcio total, se cuantificó en cada fracción la presencia de carbonato de calcio en el concentrado de nopal, fracción soluble e insoluble, mediante técnicas volumétricas a fin de localizar la mayor concentración de estos compuestos

Etapa 1

7.1 Recolección de cladodios de nopal

Los cladodios fueron cortados con un instrumento punzo cortante de acero inoxidable desde la raíz con ayuda de papel o guantes para evitar espinarse. La recolección del nopal se realizó un día antes de la de la deshidratación.



La temporada en la que se cosechó fue la primavera-verano del 2010. Para determinar la edad de los nopales, estos fueron marcados y fechados durante el brote de los mismos. Cada muestra consistió en aproximadamente 50 kg de nopal el cual fue colectado de diferentes plantas en la misma zona de muestreo como se muestra en la Figura 26. Todas las unidades se cosecharon entre las 10 a.m. y 12 p.m. Se muestran los nopales en cajas de plástico caladas. En estas se recolectaron y se trasladaron para la experimentación.



Figura 26. Nopales cortados y trasladados en cajas de peso de 400 g

7.2 Caracterización física de la materia prima

La caracterización física se realizó en los nopales sin pelar. Los resultados en nopales de 100 días de madurez se presentan en el Cuadro 8.

Cuadro 8. Peso y dimensiones de los cladodios de 100 días (400g)

Madurez (días)		Longitud (cm)	Ancho (cm)	Espesor (cm)	Peso (g)
100	Promedio	22.13	13.23	1.29	405.79
	Desviación estándar	0.45	0.62	0.13	4.34
	CV (%)	2.07	4.71	9.81	1.068

De acuerdo a los resultados, la desviación estándar fue baja para todos los resultados, y el coeficiente de variación fue menor al 10%, lo que indica que el material recolectado es homogéneo en sus características físicas.



7.3 Limpieza y desespinado de los nopales

Realizando un balance de materia del peso original, al eliminar la corona y las espinas los nopales aproximadamente perdieron un 17 ± 1.2 g de su peso.

7.4 Secado de nopal a diferentes temperaturas 50, 60 y 70 °C

Se decidió utilizar la temperatura de secado de 70°C, ya que como muestra la Figura 27, es la que secó más rápidamente a los nopales.

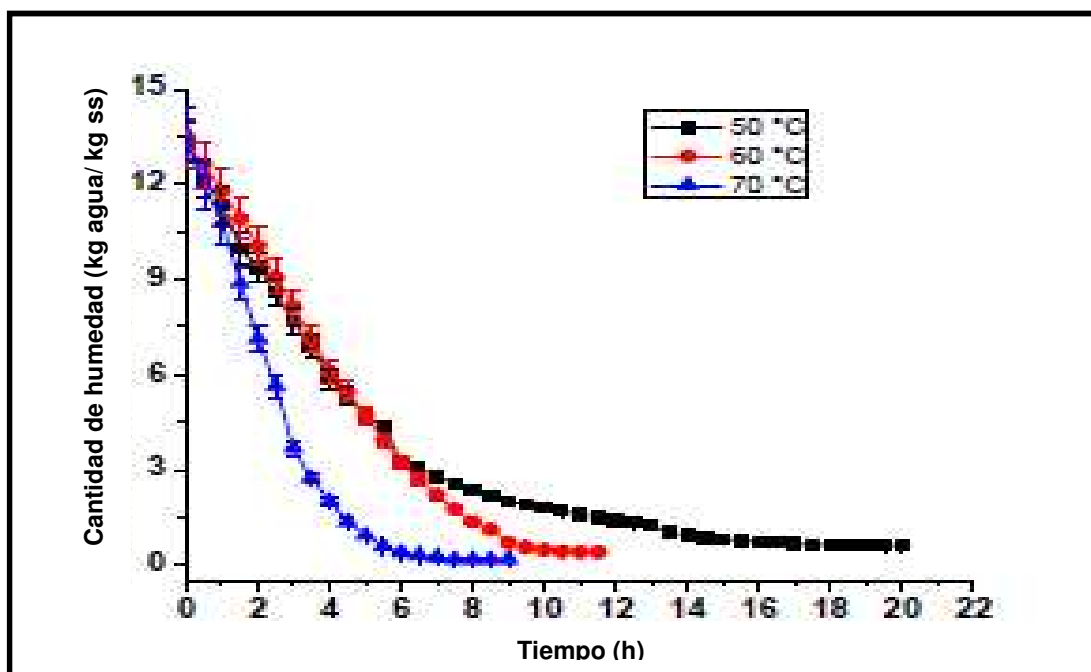


Figura 27. Gráfica de secado de nopales de 400 g

El tiempo de secado fue de 9.28 horas para nopales de 400g de peso hasta alcanzar una humedad del 4%. para 70 °C. La temperatura se seleccionó en función del tiempo de deshidratación, ya que en esta actividad no se persigue el contenido de nutrientes, únicamente deshidratar al máximo y no afectar a los minerales presentes en nopales secos, que son objeto de estudio del presente trabajo.

7.5 Molienda de nopal con diferente edad de maduración

La molienda de los cladodios ya deshidratados se llevó a cabo utilizando una criba a la salida del equipo de 0.8 mm. El tamizado de los sólidos granulares se



realizó con el tamiz 60 USA que es el que ofrece tamaños de partícula menores a 250 μm , lo que atravesó el tamiz se utilizó para preparar la suspensión de nopal deshidratado. Con esto se logró una distribución de tamaño del sólido granular homogéneo y lo más parecido al del nopal fresco fue de un tamaño de partícula en promedio de 250 μm .

7.6 Resultados de concentración de humedad en nopal fresco

De la pulpa de nopal molida de nopales frescos, se estableció la concentración de sólidos totales por una prueba indirecta con el método de la humedad, el promedio de tres repeticiones fue de 4.00 ± 0.04 .

7.7 Resultados de suspensión con nopal deshidratado

La suspensión de nopal deshidratado se preparó con el polvo de nopal que pasa la malla 60 USA, a una concentración de 4.00, igual que la del nopal fresco. Se utilizaron 160 g de sólido granular de nopal, más 3,840 de agua desmineralizada, para un total de 4 litros de suspensión por corrida experimental.

Etapas 2

Resultados para el objetivo específico 1

7.8 Centrifugación de suspensiones de nopal a diferentes condiciones

Para analizar los resultados se procedió a separar las variables por series en donde S es la serie, en segundo lugar velocidades de giro: 7000 (7), 7500 (75) y 8000 (8), en tercer lugar los números: 2, 4 y 6 indican las velocidades de alimentación y al final los números: 0, 2 y 4 son las alturas que se utilizaron los tornillos de gravedad de la centrifuga. Cada una de las variables o factores dependientes fue evaluada a diferentes condiciones experimentales para evidenciar la calidad en la separación de la fracción soluble y con esto la pureza del mucílago.



a) Resultados del volumen recolectado de la fracción ligera (mL)

Los resultados de la determinación de volumen recolectado de fracción ligera, o fracción soluble se reportan en la figura 28, en donde se graficaron los promedios y la desviación estándar de 3 repeticiones por cada serie.

El volumen recolectado se cuantificó colocando probetas de plástico fuera de la salida de la tolva para la fracción ligera. De los 4000 mL de la suspensión preparada con nopal deshidratado, se cuantificaron los (mL) obtenidos en la fracción soluble, con esto se gráfico volumen de clarificado (mL) vs número de serie. El número de serie corresponde a cada una de las condiciones de operación utilizadas para la extracción de la fracción soluble.

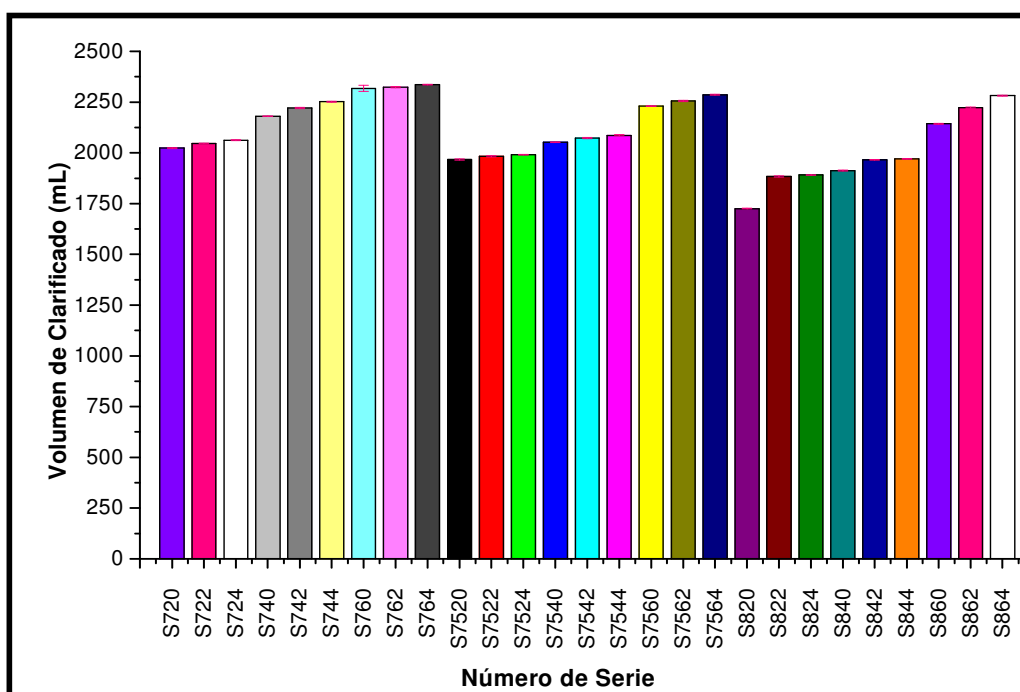


Figura 28. Volumen de fracción soluble obtenido a diferentes condiciones

Los mayores volúmenes recolectados de clarificado se obtuvieron a una velocidad de giro de 7000 rpm, velocidad de alimentación de 600 mL/min. Sin embargo, a pesar de ser los mayores volúmenes obtenidos, también fueron los más turbios. Esto significa que la eficiencia de separación fue deficiente, ya que hay presencia de sólidos de la fracción insoluble. Por el contrario, a mayores velocidades de giro (8000 rpm), velocidad de alimentación de 200 mL/min y con tornillo de restricción cerrado (0 mm), se obtuvieron menores volúmenes de



clarificado, pero fueron más claros es decir presentaron menor cantidad de sólidos. De acuerdo con esto, la mayor cantidad de volumen no fue la más adecuada para la extracción.

b) Resultados del tiempo de residencia (min)

El tiempo de residencia es aquel donde la suspensión permanece dentro de la centrifuga para la separación de sus fracciones, soluble e insoluble. En la Figura 29 se presentan los resultados obtenidos de la determinación del tiempo de residencia para todos los clarificados a las diferentes condiciones de proceso.

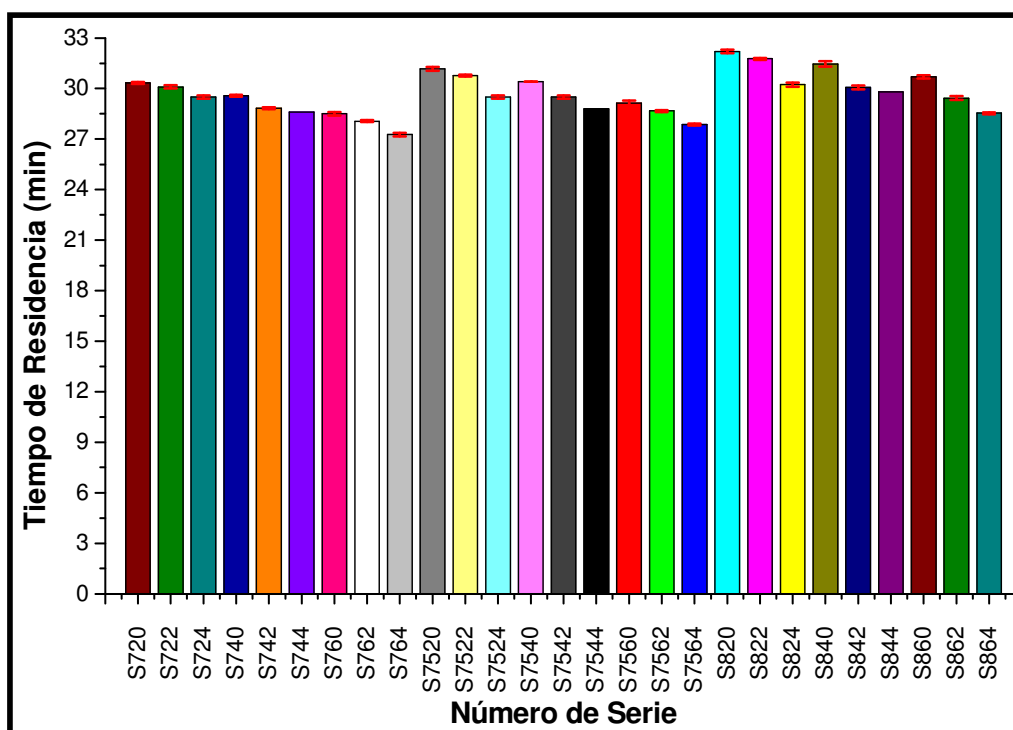


Figura 29. Tiempo de residencia en la centrifuga de discos en la separación de la fracción soluble e insoluble.

Se puede apreciar que a una velocidad de giro de 8000 rpm, con una velocidad de alimentación de 200 mL/min y a alturas de tornillo de 0 y 2 mm, se obtuvo un mayor tiempo de residencia, siendo mayor cuando los tornillos se



encontraron completamente cerrados (0 mm). Esto es debido a que la velocidad de alimentación de la suspensión también es la menor.

El menor tiempo de residencia correspondieron a las velocidades menores de rotación 7000 rpm, velocidad de alimentación de 600 mL/min y a una altura de tornillo de 4 mm. Los tiempos de residencia más largos mostraron fracciones solubles de mayor calidad, es decir, con menores sólidos de la fracción insoluble. Esto indica que la separación de las fracciones del nopal, requiere un tiempo largo para que se realice con mayor eficiencia. Además estos datos coinciden con los menores volúmenes de recolección mostrados anteriormente en la gráfica de volúmenes recolectados.

c) Resultados de densidad de la fracción soluble (g/cm³)

Los resultados para la determinación de densidad de las fracciones ligeras se reportan en la Figura 30.

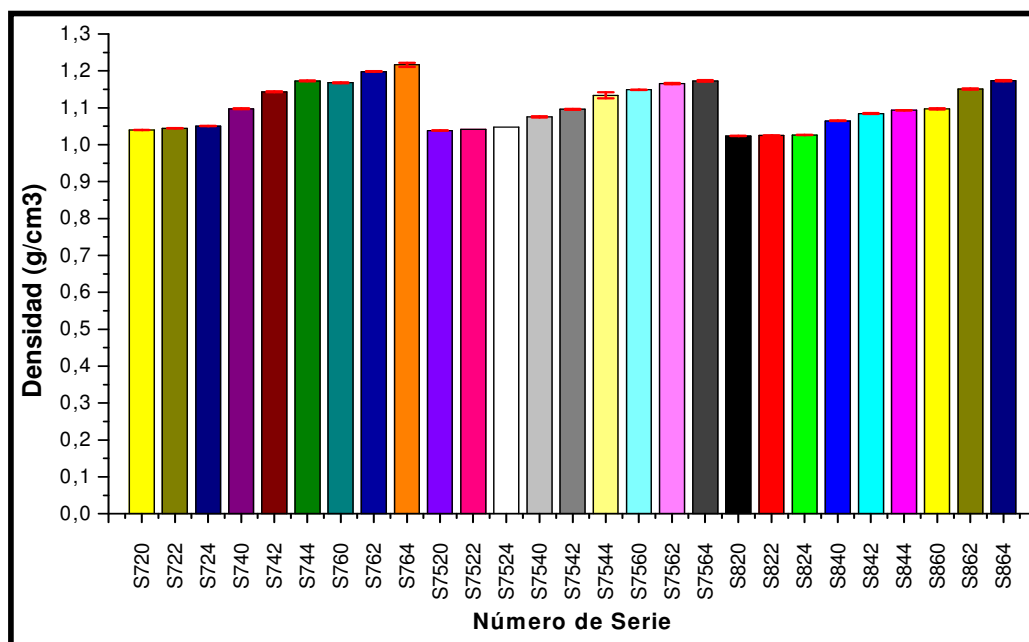


Figura 30. Densidad de las fracciones solubles

Se presentan los mayores valores de densidad que se obtuvieron a una velocidad de giro de 7000 rpm, con una velocidad de alimentación de 600 mL/min y a las alturas de tornillo de 2 y 4 mm, siendo mayor a 4 mm, es decir



que a estas condiciones de proceso se obtuvo más cantidad de sólidos por lo que la fase ligera se encontró contaminada.

Sin embargo, a mayores velocidades de giro (8000 rpm); velocidades de alimentación de 200 mL/min y a las diferentes alturas de tornillo se presentaron los menores valores de densidad, por lo que se asume que la fracción insoluble se encontró menos contaminada. Estos resultados pueden correlacionarse con el menor volumen, el mayor tiempo de residencia y la mayor calidad.

d) Resultados de turbidez de las fracciones solubles (NTU)

Los resultados para la determinación de turbidez de las fracciones solubles, se reportan en la Figura 31 y representa los valores obtenidos de turbidez de los clarificados obtenidos a las diferentes condiciones de proceso.

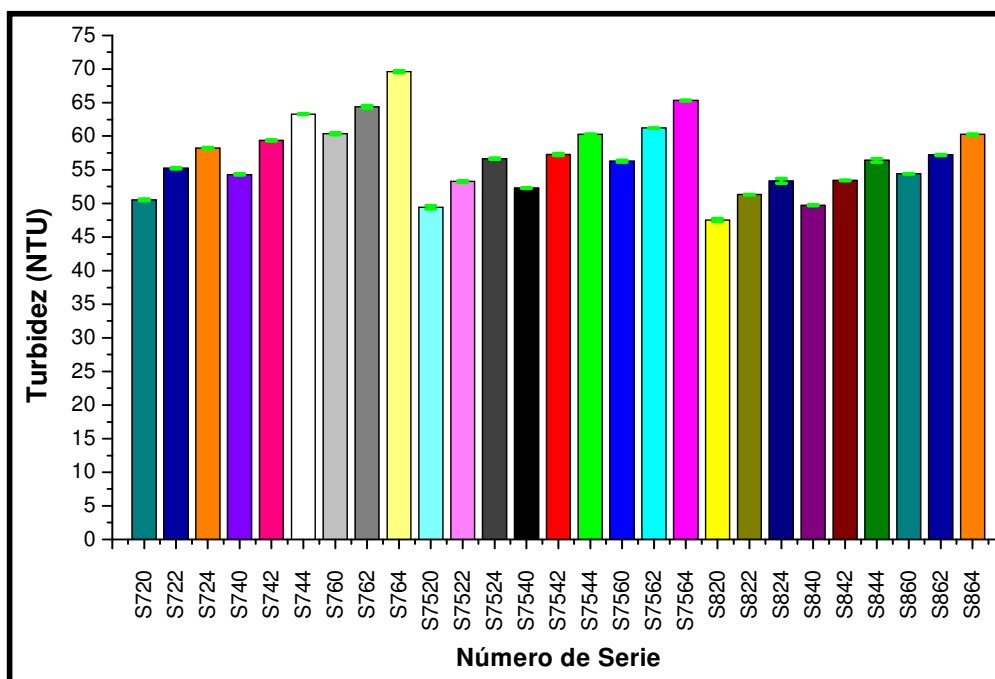


Figura 31. Turbidez de las diferentes fracciones solubles obtenidas a distintas condiciones de proceso.

La turbidez mostrada en las fracciones solubles obtenidas a diferentes condiciones indica el grado de falta de transparencia de un líquido, debido en



gran medida, a la presencia de partículas que se encuentren en suspensión en dicho líquido. Así, cuanto mayor sea la cantidad de sólidos en suspensión presentes en un agua, mayor será la sensación de suciedad de esta, y por lo tanto, mayor será la turbidez.

Como se puede observa, el mayor valor de turbidez se obtuvo a una velocidad de giro de 7000 y 7500 rpm, velocidad de alimentación de 600 mL/min y a una altura de tornillo de 4 mm, siendo mucho mayor a 7000 rpm. Estos valores indican que las fracciones solubles tienen una gran cantidad de sólidos. El menor valor de turbidez se obtuvo a una velocidad de giro de 8000 rpm, velocidad de alimentación de 200 mL/min y a una altura de tornillo de 0 mm, es decir completamente cerrado. Al ser menor el valor de la turbidez es más parecido al agua utilizada como referencia, que tiene un valor de turbidez de 0.00 NTU, esto indica que es totalmente transparente.

e) Resultados de sólidos totales de la fracción soluble

Los resultados obtenidos de la determinación de sólidos totales para todos los clarificados se reportan en la Figura 32.

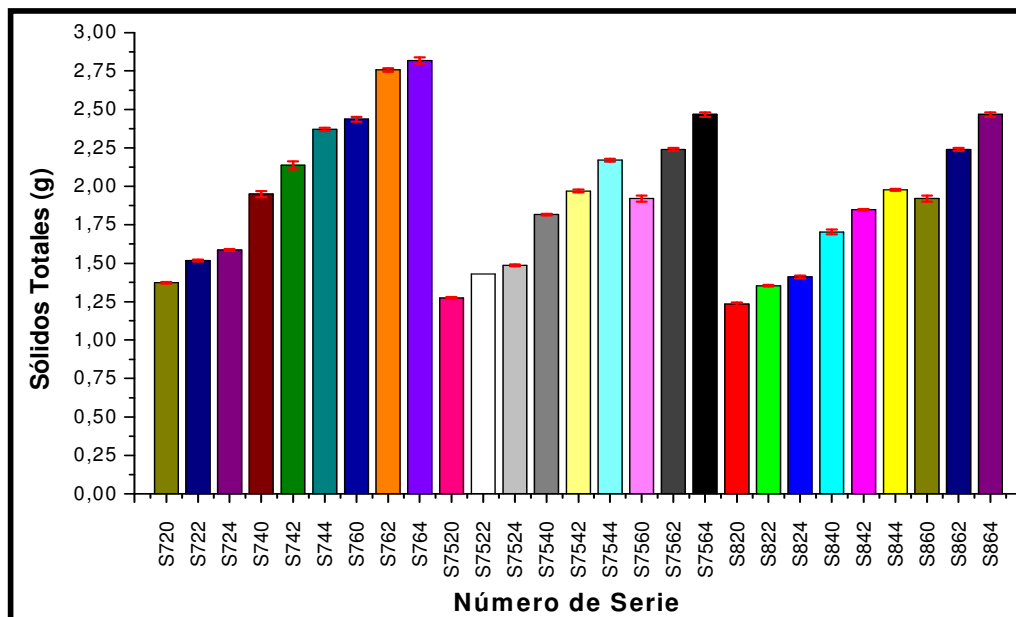


Figura 32. Sólidos totales presentes en las fracciones solubles obtenidas a distintas condiciones de proceso.



Se observa que la fracción soluble con una mayor cantidad de sólidos totales fueron los obtenidos a velocidad de giro de 7000 rpm, velocidad de alimentación de 600 mL/min y a alturas de tornillo de 2 y 4 mm, siendo mayores a 4 mm. Esto indica que las fracciones obtenidas a estas condiciones son las que presentan menor calidad, ya que se encuentran más contaminadas. La fracción soluble de mayor calidad es la de 8000 rpm, tornillo de gravedad cerrado y la menor velocidad de alimentación de la suspensión de nopal deshidratado.

f) Resultados de la luminosidad de la fracción soluble

En la figura 33 se reportan los resultados obtenidos de la determinación de color de la fase ligera, tomando en cuenta el parámetro “L” que indica la luminosidad de la muestra.

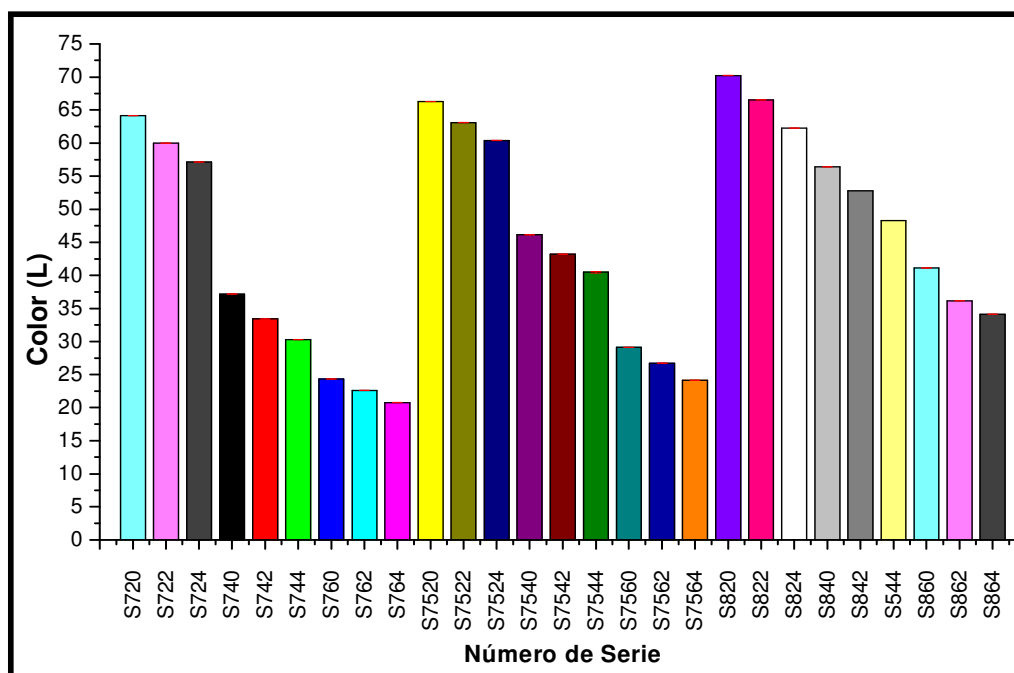


Figura 33. Luminosidad de las fracciones solubles obtenidas a distintas condiciones de proceso.

Se reportan los valores de la variable “L” luminosidad o brillantez de los clarificados obtenidos a las diferentes condiciones de proceso. Los valores de L



van de 0 (negro) hasta 100 para colores de máxima brillantez (blanco). La luminosidad es la capacidad de reflejar la luz.

Los mayores valores de luminosidad se pueden apreciar a una velocidad de giro de 8000 rpm, con una velocidad de alimentación de 200 mL/min y a las tres alturas de tornillos, siendo mayor cuando los tornillos están totalmente cerrados, es decir a 0 mm. Esto indica que se tiene una menor cantidad de sólidos solubles en el clarificado y esto permite que la luz atraviese la muestra más fácilmente. Estos resultados correlacionados con la turbidez mostraron lo contrario, lo que indica que fueron los de mayor calidad.

g) Resultados de rendimiento (mucílago) (mg mucílago/g de nopal).

En la Figura 34, se presentan los resultados obtenidos para el rendimiento en mucílago de cada una de las fracciones solubles.

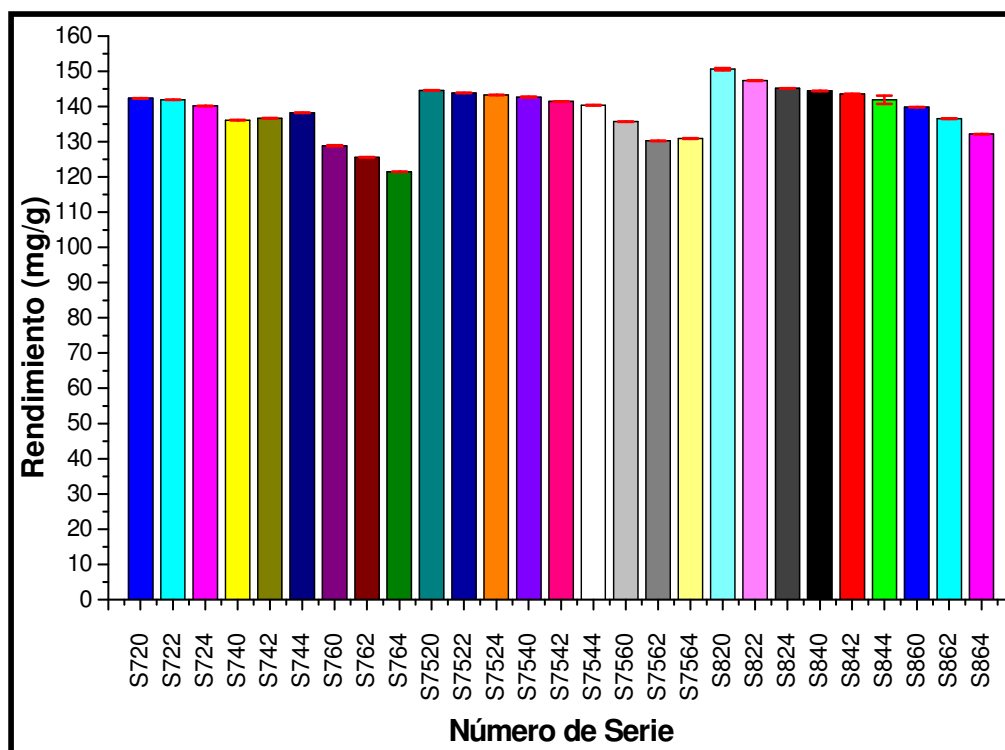


Figura 34. Rendimiento en mucílago obtenido de las fracciones solubles

A las condiciones de proceso antes mencionadas se obtuvo un rendimiento de 150.57 mg/g de nopal el cual fue el más alto (15.057 %). De acuerdo a lo obtenido en cuanto a volumen de clarificado, se puede ver que aunque a estas



condiciones se obtiene menor volumen, éste tiene un mayor rendimiento en mucílago, además de presentar las mejores características en calidad de su fracción soluble de nopal.

Se observa que el mayor rendimiento correspondió a las condiciones de 8000 rpm, tornillo de gravedad cerrado completamente y la menor velocidad de alimentación de la suspensión a la centrifuga. Los rendimientos obtenidos para todas las condiciones de proceso fueron buenos en comparación por los reportados por otros autores Medina-Torres (2005), 9.4 %, Matsuhiro *et al.* (2006) 3.8% con nopal fresco; por lo que se puede decir que el procedimiento de extracción así como el manejar nopal deshidratado da buenos resultados en cuanto a rendimiento de mucílago.

7.9 Análisis estadístico

El experimento en el que se investigan dos o más factores simultáneamente se conoce como experimento factorial. Este diseño se aplica cuando se desea estudiar, simultáneamente, los efectos de dos o más variables. En un experimento factorial no sólo pueden estudiarse los efectos de los factores individuales sino, si el experimento se lleva a cabo apropiadamente, puede estudiarse también la interacción entre los factores (Montgomery y Runger, 1999). Las variables independientes o factores que fueron evaluados fueron la velocidad de giro, la velocidad de alimentación y la altura de tornillo. Estos tres factores tienen tres niveles de variación cada uno.

En el cuadro 9 se presenta el resumen del diseño factorial multinivel que da el programa estadístico Minitab que obtiene el software. Se tomaron como base 27 corridas con tres replicas dando un total de 81 corridas en un bloque.

Cuadro 9. Diseño factorial

Factor	Nombre	Niveles	Valor de los Niveles		
A	Vel. de Giro	3	7000	7500	8000
B	Vel. de Alimentación	3	200	400	600
C	Altura de Tornillo	3	0	2	4



El gráfico de efectos principales sobre la variable de respuesta volumen de clarificado se puede observar con mayor claridad en la Figura 35, en donde se graficaron el promedio de la variable de respuesta con respecto a la velocidad de giro, velocidad de alimentación y altura de tornillo.

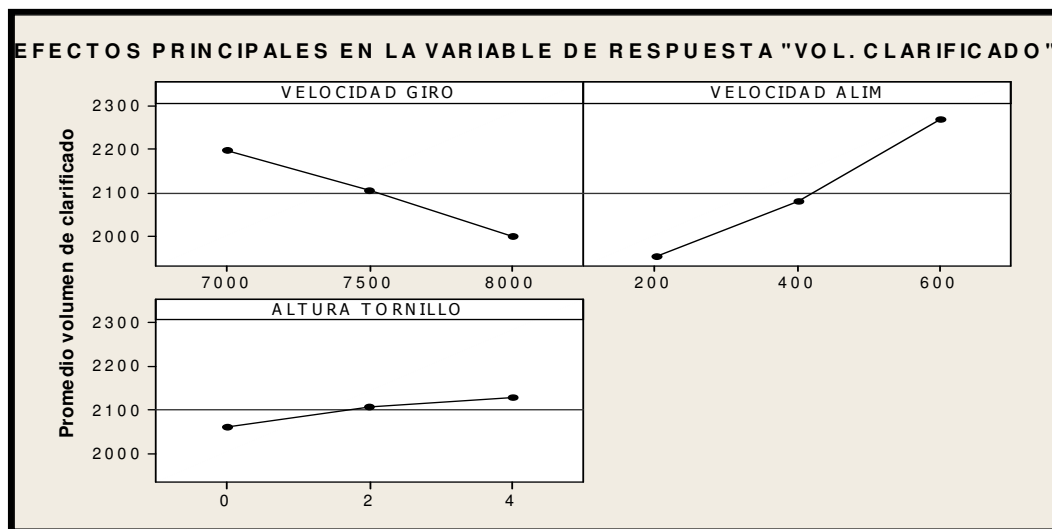


Figura 35. Diagrama de efectos principales sobre la variable de respuesta volumen de clarificado.

Como se puede apreciar, el promedio de todos los resultados obtenidos fue de 2100 mL de volumen de clarificado.

En el caso de la velocidad de giro, se observa que al nivel más bajo 7000 rpm se obtuvo el mayor volumen de clarificado, mientras que a una velocidad de 7500 rpm se acercó a la media de los datos, y al nivel más alto de dicho factor 8000 rpm se consiguió un menor valor para la variable de respuesta (volumen).

En cuanto a la velocidad de alimentación se apreció un mayor efecto, ya que la diferencia entre los niveles bajo y alto es más grande. Al nivel más bajo 200 mL/min se obtuvo la menor cantidad de clarificado, al nivel más alto 600 mL/min se extrajo la mayor cantidad de volumen de clarificado pero contaminado.

Para el factor, altura de tornillo el efecto fue menor, ya que todos los datos se acercaron al promedio, sin embargo, cuando estuvo en 0 mm hubo menor cantidad de clarificado, y a una altura de 4 mm se obtuvo un mayor valor.



En la figura 36, se puede apreciar el diagrama de efectos principales sobre la variable de respuesta Color (L).

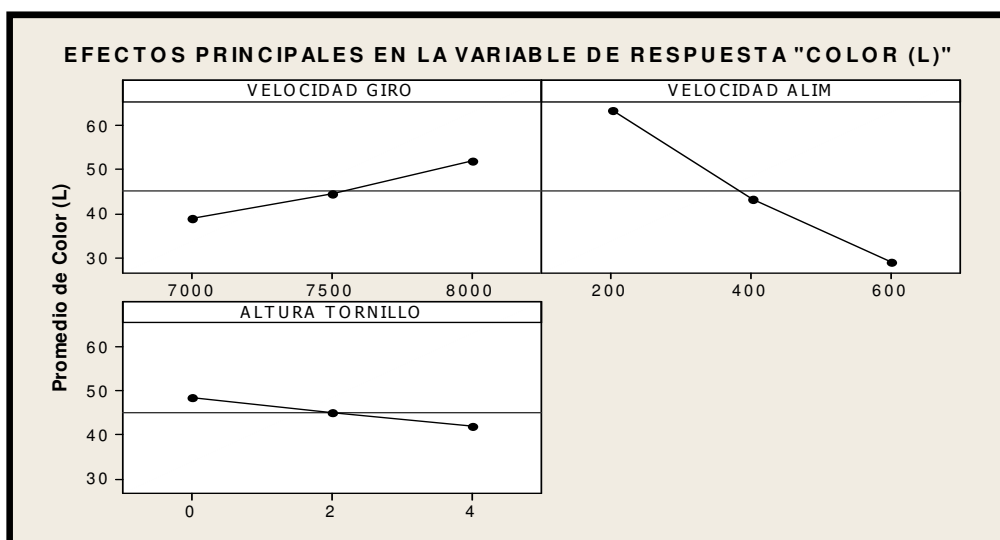


Figura 36. Diagrama de efectos principales sobre la variable de respuesta Color (L).

Para la velocidad de giro, se observa que al nivel más bajo se obtuvo el menor valor de color, mientras que a una velocidad de 8000 rpm se consiguió una mayor lectura para la variable de respuesta .

En cuanto a la velocidad de alimentación se aprecia un mayor efecto, ya que la diferencia entre los niveles bajo y alto nuevamente es más grande. Al nivel más bajo de dicho factor se obtuvo un mayor valor de color, cercano al del agua y el más alto se presentó la lectura más baja.

Para el caso de la altura de tornillo el efecto fue menor, ya que todos los datos se acercan al promedio, esto quiere decir que la altura del tornillo no tiene un gran efecto sobre el color del clarificado.

El diagrama de efectos principales para la variable de respuesta densidad la cual se puede apreciar en la Figura 37.

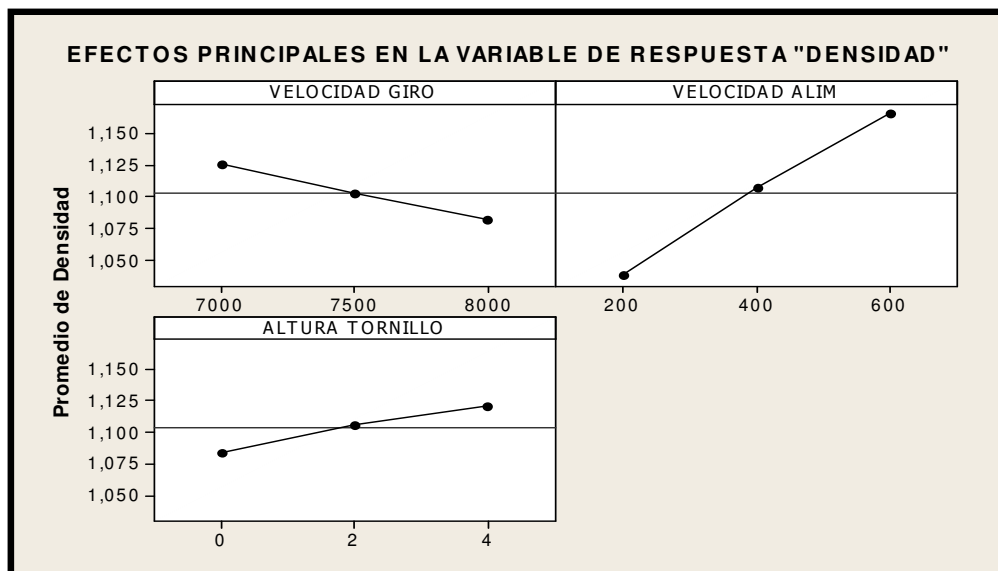


Figura 37. Diagrama de efectos principales sobre la variable de respuesta densidad.

En este caso se puede ver que la velocidad de giro tuvo un efecto parecido al de la altura de tornillo, ya que ambos casi se acercaron al promedio de los datos. A una velocidad de giro de 7000 rpm se obtuvo el valor más alto de densidad en comparación con la de 8000 rpm. Para un valor medio del factor se aprecia que la densidad cayó en el promedio.

En cuanto a la velocidad de alimentación se observa que tuvo un efecto más significativo sobre la densidad, ya que al nivel más alto de dicho factor se tienen los menores valores de densidad, en el nivel medio se encuentra muy poco por arriba del promedio y a la velocidad más alta se obtuvo el mayor valor de densidad. En el caso de la altura de tornillo, cuando el factor se encuentra en el nivel de 0 mm hay una menor densidad, a 2 mm se encuentra casi en el promedio y a una altura de 4 mm se obtuvo un mayor valor de la variable de respuesta.

El diagrama de efectos principales para la variable de respuesta turbidez se presenta a continuación en la figura 38.

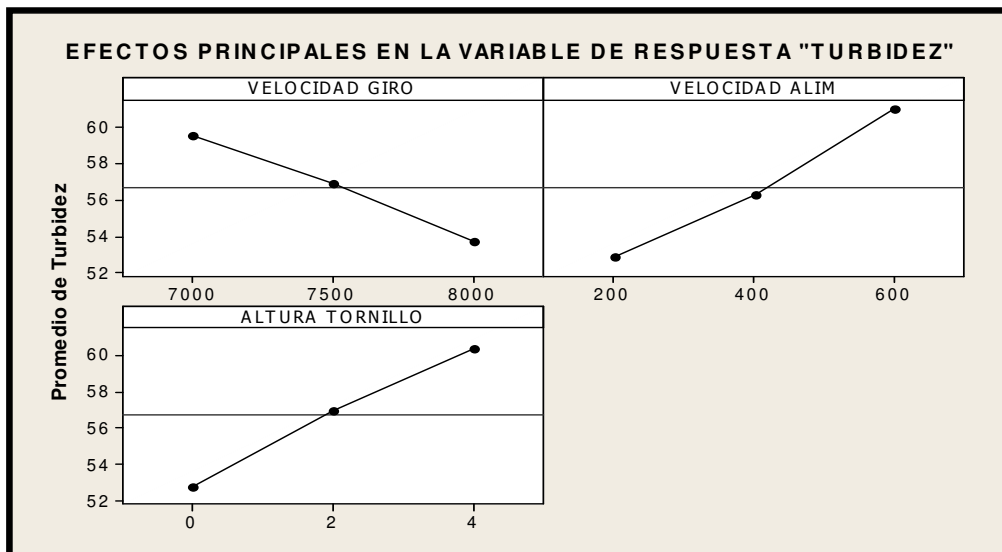


Figura 38. Diagrama de efectos principales sobre la variable de respuesta turbidez

Nuevamente, la velocidad de alimentación fue la que tuvo un mayor efecto sobre la variable de respuesta, seguida en este caso por la altura de tornillo y por último la velocidad de giro. A menor velocidad de giro se obtuvo un valor alto de turbidez, en el valor medio (7500 rpm) la turbidez cayó un poco arriba del promedio, mientras que a la velocidad más alta se observó menor turbidez.

En el caso de la velocidad de alimentación a la más baja se encontró el menor valor de turbidez, al aumentar a 400 mL/min el valor de la variable de respuesta queda por debajo del promedio y a la más alta velocidad también se observó un incremento en la respuesta. Para la altura de tornillo se puede ver que a 0 mm hubo menor turbidez, al aumentar a 2 mm éste valor quedó por poco arriba del promedio y a 4 mm el valor de la turbidez se incrementó.

En la Figura 39, se puede apreciar el diagrama de efectos principales sobre la variable de respuesta sólidos totales.

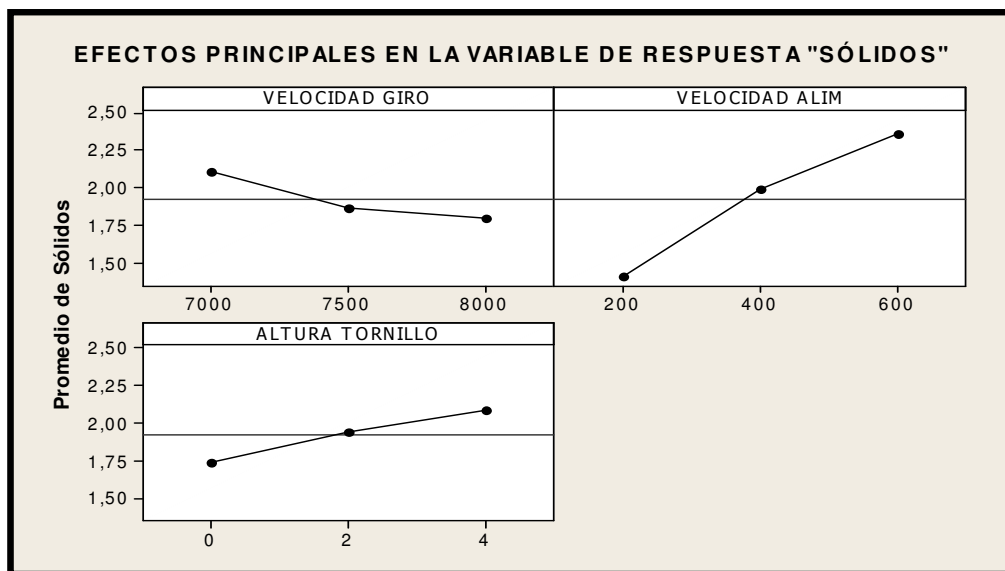


Figura 39. Diagrama de efectos principales sobre la variable de respuesta sólidos totales.

Para esta variable de respuesta la velocidad de alimentación fue la que tuvo un mayor efecto, seguida por la altura de tornillo y por último la velocidad de giro.

A menor velocidad de giro se obtuvo un valor alto de sólidos totales, en el valor medio (7500 rpm) este valor cayó por debajo del promedio, mientras que a la velocidad más alta se observó menor cantidad de sólidos.

En el caso de la velocidad de alimentación, a la más baja se obtuvo una cantidad baja de sólidos, al aumentar a 400 mL/min el valor de la variable de respuesta quedó por arriba del promedio y a la más alta velocidad también se observó un incremento en la respuesta.

Para la altura de tornillo se puede ver que a 0 mm se presentaron menos sólidos, al aumentar a 2 mm este valor quedó por poco arriba del promedio y a 4 mm el valor se incrementó.



En la figura 40, se observa el diagrama de efectos principales sobre la variable de respuesta rendimiento.

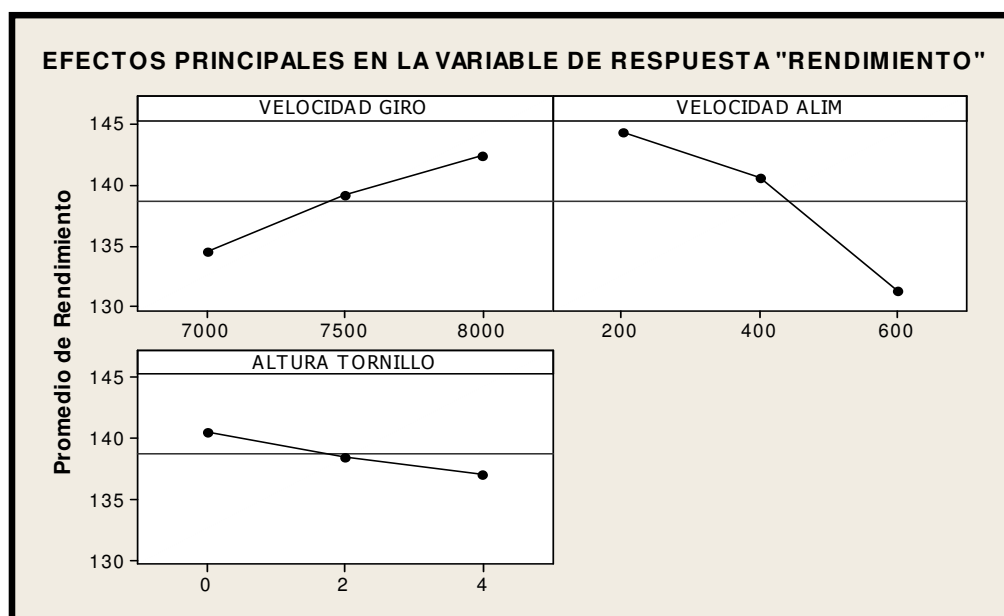


Figura 40. Diagrama de efectos principales sobre la variable de respuesta rendimiento.

Para esta variable de respuesta la velocidad de alimentación es la que tuvo un mayor efecto, seguida por la velocidad de giro y por último la altura de tornillo. A menor velocidad de giro se obtuvo un valor bajo de rendimiento, en el valor medio (7500 rpm) este valor cae por arriba del promedio, mientras que a la velocidad más alta se observó que hay mayor rendimiento.

En el caso de la velocidad de alimentación, a la más baja se obtuvo un mayor rendimiento, al aumentar a 400 mL/min el valor de la variable de respuesta quedó por arriba del promedio y a la más alta velocidad se observó un decremento en la respuesta.

Para la altura de tornillo se puede ver que a 0 mm hubo más rendimiento, al aumentar a 2 mm éste valor quedó por poco debajo del promedio y a 4 mm el valor de la variable de respuesta disminuyó



En la figura 41, se puede apreciar el diagrama de efectos principales sobre la variable de respuesta tiempo de residencia.

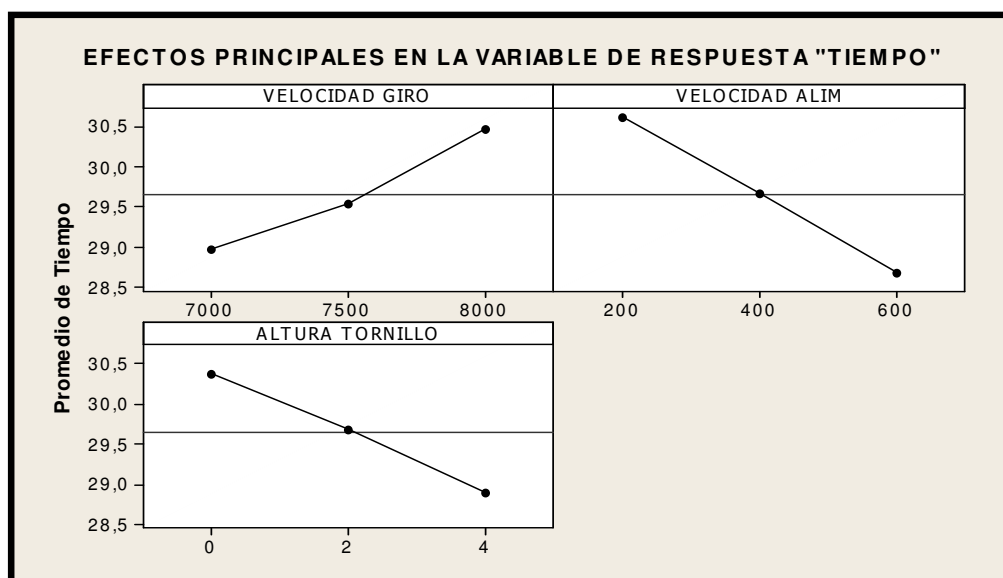


Figura 41. Diagrama de efectos principales sobre la variable de respuesta tiempo de residencia.

Para esta variable de respuesta la velocidad de alimentación es la que tuvo un mayor efecto, seguida por la velocidad de giro y por último la altura de tornillo. A menor velocidad de giro se obtuvo un menor tiempo de residencia, en el valor medio (7500 rpm) este valor cayó por debajo del promedio, mientras que a la velocidad más alta se observó que el tiempo es mayor.

En el caso de la velocidad de alimentación, a la más baja el valor de la variable se incrementó, al aumentar a 400 mL/min quedó por arriba del promedio y a la más alta velocidad se observó un decremento en la respuesta. Para la altura de tornillo se puede ver que a 0 mm el tiempo de residencia fue mayor, al aumentar a 2 mm este valor quedó por poco arriba del promedio y a 4 mm el valor de la variable de respuesta disminuyó. No mostró interacciones esta variable.

Para el análisis estadístico de los datos también se llevó a cabo un diseño de superficie de respuesta. Sin embargo, los resultados obtenidos para las



condiciones óptimas del proceso fueron muy cercanos a los niveles de los factores manejados en la experimentación. En el Cuadro 10 se muestran las condiciones óptimas de proceso obtenidas al crear un diseño de superficie de respuesta en el programa estadístico STATGRAPHICS.

Cuadro 10. Condiciones óptimas de proceso para un diseño de superficie de respuesta

Condiciones Óptimas de Proceso			
Variable de respuesta	Vel. de Giro (rpm)	Vel. de Alim. (mL/min)	Altura de Tornillo (mm)
Volumen recolectado (mL)	7000	600	3
Color (L)	8000	200	0
Densidad (g/cm ³)	8000	200	0
Turbidez (NTU)	8000	200	0
Sólidos Totales (g)	7727	200	0
Rendimiento (mg/g)	8000	239.81	0
Tiempo de residencia (min)	8000	200	0

Las condiciones óptimas para las variables individuales se alcanzaron a las velocidades de giro de 8000 rpm para la mayoría de las variables, excepto para sólidos totales-velocidad de giro que fue de 7727 rpm.

Para la variable velocidad de alimentación-rendimiento lo óptimo sería trabajar a velocidades de 239.81 (mL/min). Para la variable altura del tornillo de gravedad y volumen de recolectado, la óptima sería a 3 mm de altura del tornillo. Considerando todas las variables trabajadas experimentalmente, los resultados se presentan en el Cuadro 11. Se muestran los datos obtenidos para la optimización de respuesta múltiple del proceso, para todas las variables conjugadas.

Cuadro 11. Optimización de respuesta múltiple

Optimización de respuesta múltiple		
Vel. de Giro (rpm)	Vel. de Alim. (mL/min)	Altura de Tornillo (mm)
7876.77	200	0



Los datos mostrados corresponden a los valores que deben tomar los factores para así poder obtener los óptimos múltiples de cada variable de respuesta en conjunto, es decir a esas condiciones de operación se debe manejar el equipo para obtener dichos datos.

Como se observa, las condiciones óptimas serían a una velocidad de 7876.77 rpm, con velocidad de alimentación de 200 mL/min y altura de tornillo de 0 mm (completamente cerrado).

En el Cuadro 12, se muestran los valores óptimos individuales y los múltiples.

Cuadro 12. Valores óptimos individuales y múltiples para las variables de respuesta

Optimización de respuesta múltiple		
Variable de respuesta	Óptimo individual	Óptimo múltiple
Volumen recolectado (mL)	2349.86	1934.57
Color (L)	72.2544	65.767
Densidad (g/cm ³)	1.0177	1.0285
Turbidez (NTU)	47.7321	49.5139
Sólidos Totales (g)	1.21949	1.2483
Rendimiento (mg/g)	148.549	145.301
Tiempo de residencia (min)	32.3225	31.0905

Se muestran los valores que se deben obtener de cada variable de respuesta al manejar el equipo a las condiciones óptimas mostradas en los Cuadros 10 y 11.

Los óptimos individuales para el caso de volumen recolectado, color, rendimiento y tiempo de residencia fueron mayores en comparación con el óptimo múltiple. Por el contrario, los óptimos múltiples para densidad, turbidez y sólidos totales fueron los más altos. Sin embargo, no se alejaron mucho un dato del otro, por lo que sería mejor operar el equipo a las condiciones óptimas múltiples, ya que se tendría un mayor control del proceso así como de los resultados obtenidos.



De esta manera se efectuaron corridas experimentales para comprobar que se había llegado a obtener condiciones óptimas para la extracción de mucílago de nopal deshidratado. Estos resultados fueron evaluados con las variables de respuesta utilizadas: volumen recolectado (mL), color (L), densidad (g/cm^3), turbidez (NTU), sólidos totales (g), rendimiento (mg/g), tiempo de residencia (t).

En el cuadro 13 se muestra un comparativo entre los datos obtenidos por el diseño de superficie de respuesta para variables individuales, para variables múltiples o en conjunto y para los valores obtenidos experimentalmente en la extracción de mucílago de nopal deshidratado.

Cuadro 13. Comparación de óptimos con datos experimentales

Variable de respuesta	Óptimo individual	Óptimo múltiple	Experimental
Volumen recolectado (mL)	2349.86	1934.57	1725.66
Color (L)	72.2544	65.767	70.23
Densidad (g/cm^3)	1.0177	1.0285	1.0235
Turbidez (NTU)	47.7321	49.5139	47.52
Sólidos Totales (g)	1.21949	1.2483	1.233
Rendimiento (mg/g)	148.549	145.301	150.573
Tiempo de residencia (min)	32.3225	31.0905	32.2

Los resultados obtenidos experimentalmente fueron parecidos a los obtenidos mediante el diseño de superficie de respuesta. El rendimiento fue mayor aun cuando las condiciones del equipo fueron las mismas que las obtenidas por el programa estadístico.

Dado lo anterior, se puede decir que al principio de la experimentación es necesario tener planteamiento estadístico previo para la optimización. Se puede decir que las mejores condiciones para la obtención del mucílago de nopal fueron a velocidades de giro altas (7876.7 rpm), velocidades de alimentación bajas (200 mL/min) y con los tornillos de restricción de fase ligera completamente cerrados (0 mm).



Al tener una menor velocidad de giro los clarificados se encontraron contaminados con parte de la fracción insoluble, lo que también se reflejó en los resultados obtenidos de las pruebas anteriores ya que, aunque a menores velocidades de giro se obtuvo mayor cantidad de clarificado, éste salió más contaminado. De igual manera, los resultados de color, densidad y turbidez coincidieron en que a menor velocidad de giro la luminosidad del clarificado fue más baja, la densidad aumentó así como la turbidez y la cantidad de sólidos totales.

En este caso los clarificados que presentaron mayor cantidad de sólidos totales se obtuvieron a una velocidad de 7000 rpm, velocidad de alimentación de 200 mL/min y a las tres diferentes alturas de tornillo, siendo menor a 0 mm. Estos resultados también son comparables con los obtenidos de las pruebas anteriores a altas velocidades de giro donde se obtuvo una menor cantidad de clarificado pero éste se encontró menos contaminado por lo que aumentó su luminosidad, disminuyó su densidad y turbidez, así como la cantidad de sólidos totales. Hasta el momento, se puede decir que el volumen de clarificado no es muy relevante, ya que aunque se tengan mayores cantidades de éste, presentó mala calidad en cuanto a color y densidad, por lo que esta variable de respuesta quizá podría no tomarse en cuenta para un análisis estadístico. También es importante mencionar que los clarificados con un mayor valor de luminosidad fueron los de mejor calidad, ya que aunque no se parecen a los valores de L del agua, presentaron menor contaminación. En cuanto a la densidad mientras más bajos sean los valores es mejor el clarificado.

Comparando estos resultados con los obtenidos anteriormente de cada una de las diferentes pruebas realizadas a los clarificados, se puede decir que cuando se mantiene más tiempo el clarificado dentro de la centrifuga, éste presenta mejores propiedades, aun cuando haya un menor volumen de clarificado el cual presentó una mayor brillantez, por lo que deja pasar mejor la luz, tiene una menor densidad así como turbidez y sólidos totales lo que indica que los clarificados tienen más calidad y se encuentran menos contaminados. Además, presentan un mayor rendimiento en cuanto a la cantidad de mucílago que se obtiene de la prueba.



Etapa 2

7.10 Resultados de la identificación de sales de calcio y su morfología por microscopia electrónica de barrido (SEM-AV).

a) Identificación de la forma de las sales patrón carbonato de calcio y citrato de calcio.

Se tomaron micrografías de sales de calcio de los patrones posibles que podían estar en las fracciones de nopal carbonato y citrato de calcio, las cuales se presentan en la Figura 42.

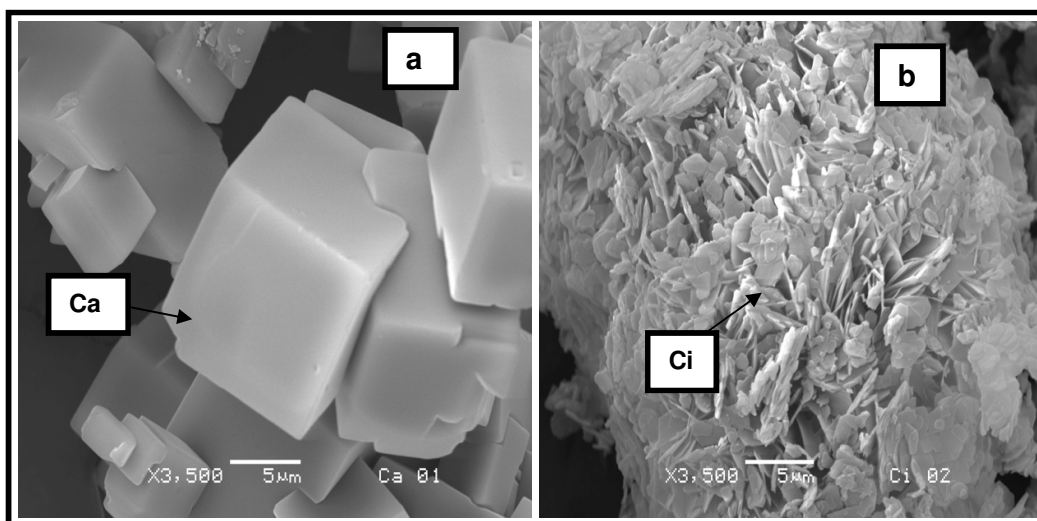


Figura 42. Sales de calcio patrones; a) Carbonato de calcio; b) citrato de calcio.

Las sales de calcio observadas al microscopio fueron utilizadas como sales patrón (Sigma–Aldrich cat. 455997). Estas micrografías fueron carbonato de calcio (**ca**) (Figura 42 a), con forma perfectamente definida de cubos, mientras que los citratos de calcio (**ci**) (Figura 42 b) presentaron forma de hojuelas

b) Identificación de la forma de oxalato de calcio en muestra de nopal

El oxalato de calcio (**Ox**) ya es una de las sales identificadas en nopal. Su forma característica es de drusas de acuerdo a lo reportado por Contreras-



Padilla et al. (2011). Ellos únicamente la identificaron en sólidos granulares de nopal deshidratado

En la figura 43 se muestra imágenes de oxalato de calcio tomadas directamente de trozos de nopal deshidratado de 100 días de maduración, para también utilizarlas como patrón, en las diferentes fracciones de nopal.

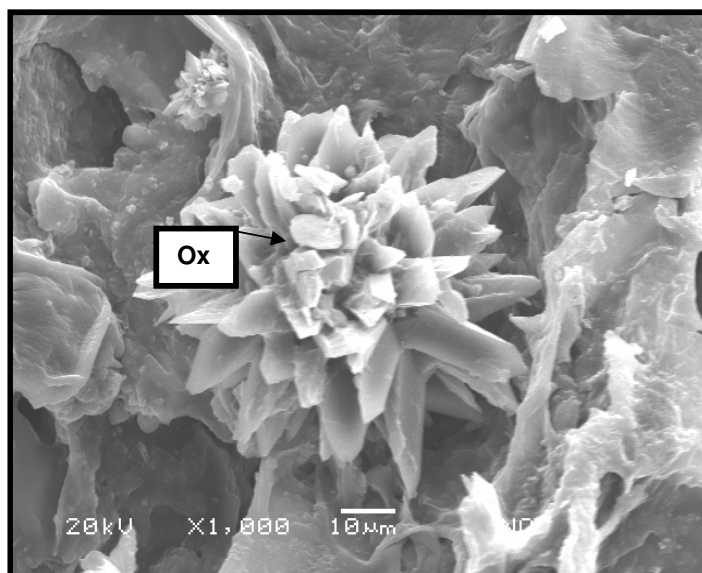


Figura 43. Sal de oxalato de calcio identificada en nopal de 100 días

Los oxalatos de calcio (**Ox**) se encontraron en diferentes tamaños en la muestra, las flechas indican dos drusas características de nopal y coincide con lo reportado por Contreras- Padilla et al., (2011).

Esta micrografía fue tomada del mismo material utilizado antes de ser molido para buscar si existen figuras similares en la fracción insoluble y en la fracción soluble.



c) Identificación de las sales de calcio en suspensión de nopal, fracción insoluble y fracción soluble

En la Figura 44 se presentan las micrografías tomadas a la suspensión de nopal.

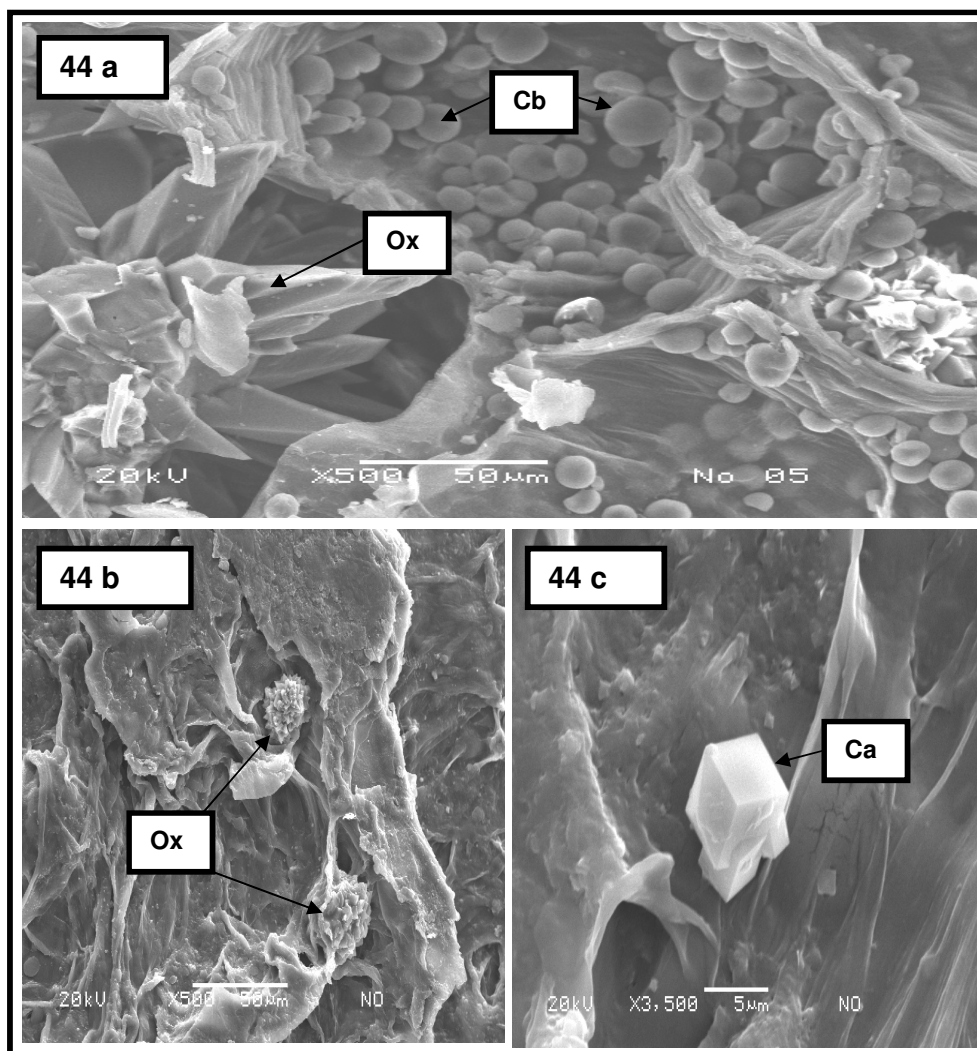


Figura 44. Micrografías de nopal; a) muestra de suspensión de nopal con células buliformes y oxalatos a 500x; b) sales de oxalato de calcio 500x; c) sales de carbonato de calcio 3500X.

Se muestran las micrografías de la suspensión de nopal deshidratado. Se evidencia al oxalato (**Ox**) típico del nopal en su forma de drusa indicado con una flecha y una gran cantidad de células buliformes en forma de burbujas



(Sugimura, et al., 1999). En la Figura 44 b se presenta una micrografía tomada a 500X donde aparece la presencia de oxalatos (**Ox**) dentro de las fibras insolubles indicados por flechas, pero estas drusas se empezaron a observar incluso en micrografías desde 50X, lo cual indica que los tamaños de estos son grandes comparados con los de los carbonatos.

En todas las micrografías analizadas, se observó que los oxalatos de calcio se esconden dentro de la fibra insoluble (**Fi**) y en la Figura 44 c tomada a 3500 aumentos, se muestra la presencia de carbonatos de calcio con su forma cubica. Los carbonatos de calcio son sales de menores dimensiones, cabe destacar que en las micrografías evaluadas estos compuestos se observan por arriba de los 1000 aumentos. No se encontraron identificadas sales de citrato de calcio, ya que en las micrografías observadas no se observó la morfología de escamas características de los citratos de calcio.

d) Identificación de sales de calcio en fracción insoluble de nopal.

En la figura 45 se observan las micrografías de la fracción insoluble del nopal, estas imágenes fueron tomadas a diferentes aumentos y en distintas zonas.

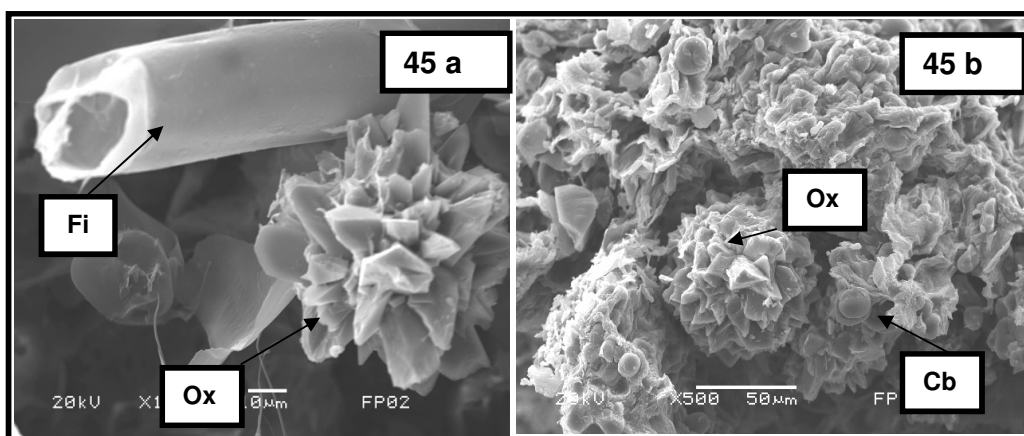


Figura 45. Micrografías correspondientes a la fracción insoluble de nopal. a) Micrografía de oxalatos y fibra insoluble a 1000 aumentos. b) Micrografía de oxalatos y células buliformes fracción insoluble a 500 aumentos.

Se muestra como los oxalatos (**Ox**) se incrustan y se pegan a la fibra insoluble (**Fi**), la flecha indica la presencia de esta. En la Figura 45 b se pueden observar varias drusas típicas de sales de oxalato monohidratado. En esta misma figura



se observan a las células buliformes, los cuales tienen una forma globular pequeña. Se tomaron micrografías hasta 5000X y no se encontraron en esta fracción carbonato de calcio, ni de citrato de calcio.

e) Identificación de sales de calcio en fracción soluble de nopal.

En la figura 46 se muestran micrografías tomadas a la fracción soluble de nopal.

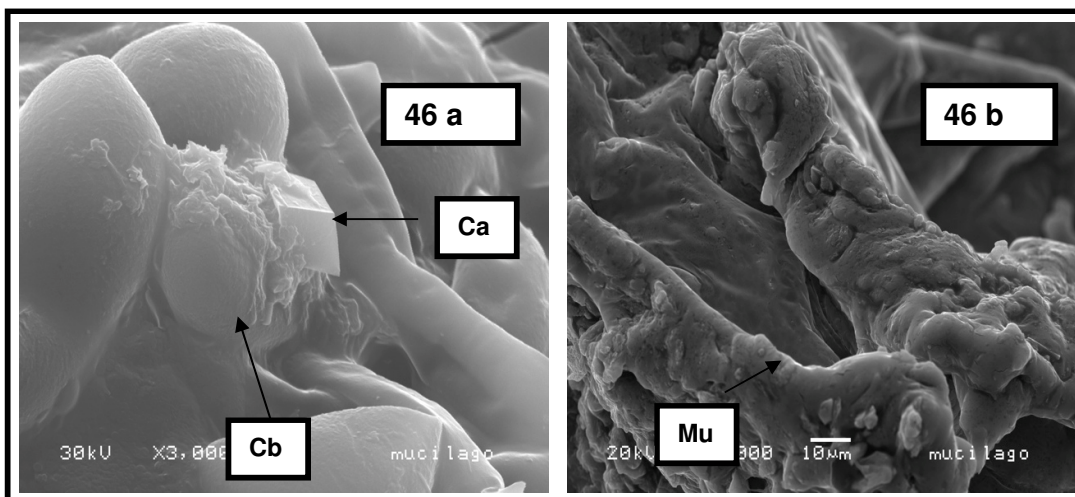


Figura 46. Micrografías tomadas a la fracción soluble de nopal. a) Carbonatos de calcio y células buliformes con mucílago a 3000 aumentos. b) Mucílago de nopal

Se evidencia la presencia de carbonatos de calcio en esta fracción en particular. Así mismo se observa como las células buliformes, específicamente los cistolitos sirven como depósitos de dichos compuestos de acuerdo a lo reportado González (2008). También se puede apreciar en la micrografía el rompimiento de células buliformes o idioblastos y el desprendimiento de mucílago. En la figura 46 b se muestra el hidrocoloide obtenido, ampliamente conocido como “mucílago de nopal” sustancia babosa y pegajosa con excelentes propiedades nutraceuticas.

7.11 Resultados de la identificación de sales de calcio y su microestructura por Difracción de rayos (DRX).

Identificación de las sales de calcio en suspensión de nopal, fracción insoluble y fracción soluble.



La figura 47 muestra el difractograma obtenido para la suspensión de nopal, fracción insoluble y fracción soluble (específicamente mucílago de nopal) con los patrones comparativos de carbonato de calcio, oxalato de calcio y citrato de calcio.

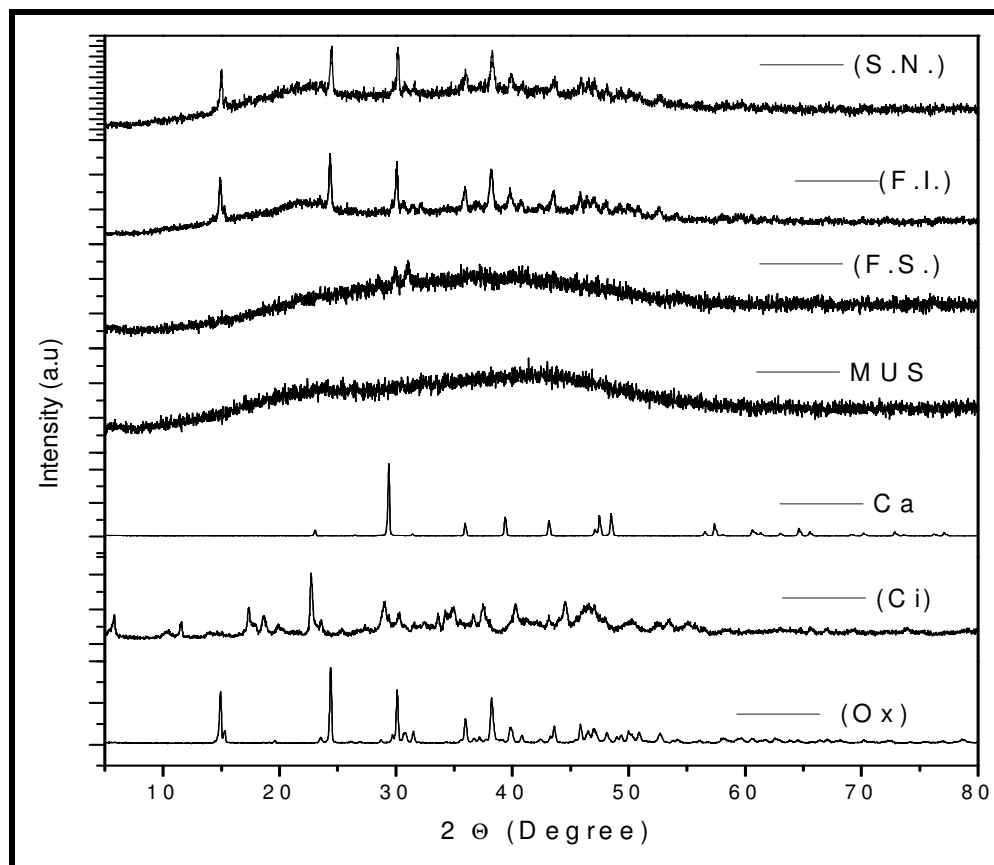


Figura 47. Difractogramas de sales patrón de calcio Carbonato de calcio (Ca), Citrato de calcio (Ci) y Oxalato de calcio (Ox), Suspensión de nopal (S.N), Fracción insoluble de nopal (F.I.), Fracción soluble (F.S), y mucílago de nopal (MUS).

No se encontraron sales de citrato de calcio en ninguna muestra, al comparar el patrón con las fracciones de nopal y la suspensión. El oxalato de calcio se encontró en la suspensión de nopal y en la fracción insoluble. Esto coincide con lo reportado por Rodríguez-García et al., (2007) y Contreras-Padilla et al., (2011). El carbonato se identificó en la suspensión y en la fracción insoluble. En la fracción soluble y en el mucílago no se pudieron identificar ninguna sal por lo que se procedió a calcinar el mucílago y la fracción soluble.



La fracción soluble no pudo calcinarse, debido a su alto contenido de agua y se formó una pasta chiclosa que no pudo analizarse. Sin embargo, el mucílago obtenido de nopal deshidratado (línea negra) se comparó con el fresco.

Adicionalmente, el mucílago deshidratado se calcinó a 200 °C, 300 °C y 400 °C. A estas temperaturas para que las sales de calcio no se convirtieran en óxido de calcio. En la Figura 48 se muestran los difractogramas.

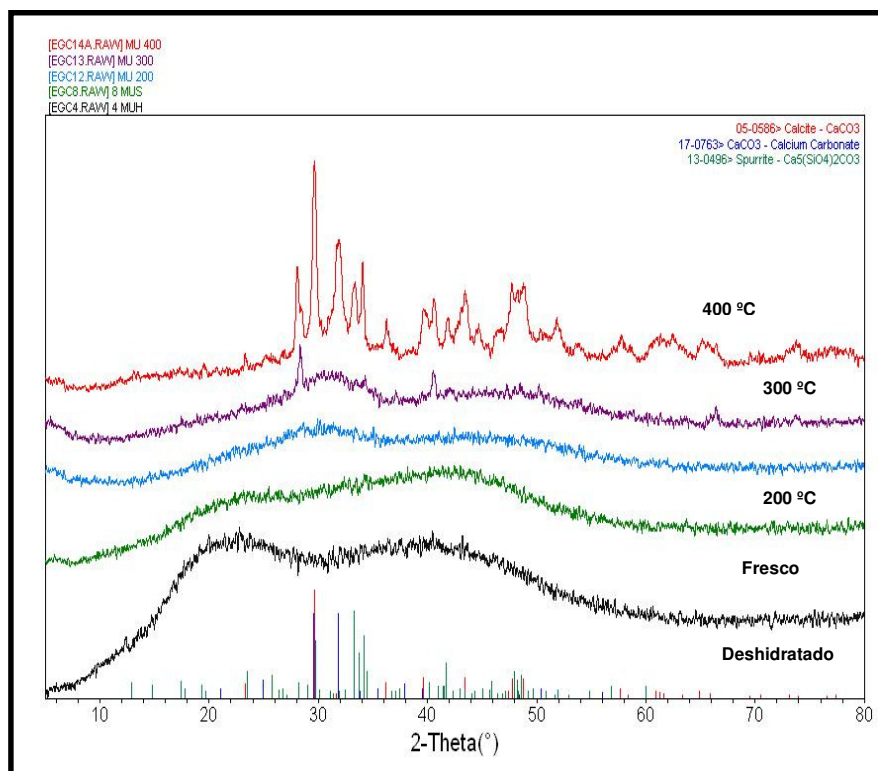


Figura 48. Difractogramas de mucílago deshidratado, mucílago fresco, calcinado a 200 °C, calcinado a 300 °C y calcinado de 400 °C

Se observan los difractogramas de mucílagos, deshidratado (Desh), fresco (Fres), calcinado a 200, 300 °C. En ningún estado se observaron las sales ni de carbonato, ni oxalato de calcio.

Sin embargo, en el mucílago calcinado a 400 °C, se encontraron sales de carbonato de calcio, pero no aparecieron rastros de oxalato de calcio, ni de citrato de calcio.



7.12 Resultados objetivo particular 4

Espectroscopia infrarroja (IR) para identificar sales de calcio de las fracciones de nopal.

La técnica de espectroscopia infrarroja es una excelente herramienta para llevar a cabo la identificación de pequeños cristales encontrados en tejidos de planta.

En la Figura 49 se muestran los resultados obtenidos para todas las fracciones de nopal. En dicha figura se muestra el espectro de infrarrojo de la sal patrón de oxalato de calcio, donde se observa que las bandas donde se leen estos compuestos están entre 3000 y 3500 cm^{-1} , así como en las bandas de 1300 y de 500 cm^{-1} .

En la misma Figura es posible comparar las diferentes fracciones evaluadas donde se observa presencia de oxalatos de calcio tanto en la suspensión de nopal como en la fracción pesada o insoluble, mientras que en la fracción soluble o mucílago no se observa la presencia de estos compuestos. En lo referente a la presencia de carbonatos de calcio, de acuerdo a lo estudiado y analizado por Varetrí y Volpont (1995) las bandas características donde se leen estos compuestos son a 1062- 800 cm^{-1} .

En base a esto se puede observar que el espectro de infrarrojo del mucílago tiene este comportamiento característico de los carbonatos. A pesar de que tanto en la suspensión de nopal como en la fracción insoluble se llegan a leer carbonatos de calcio, el mucilago presenta formas más definidas y no contiene oxalatos como en las fracciones antes mencionadas.

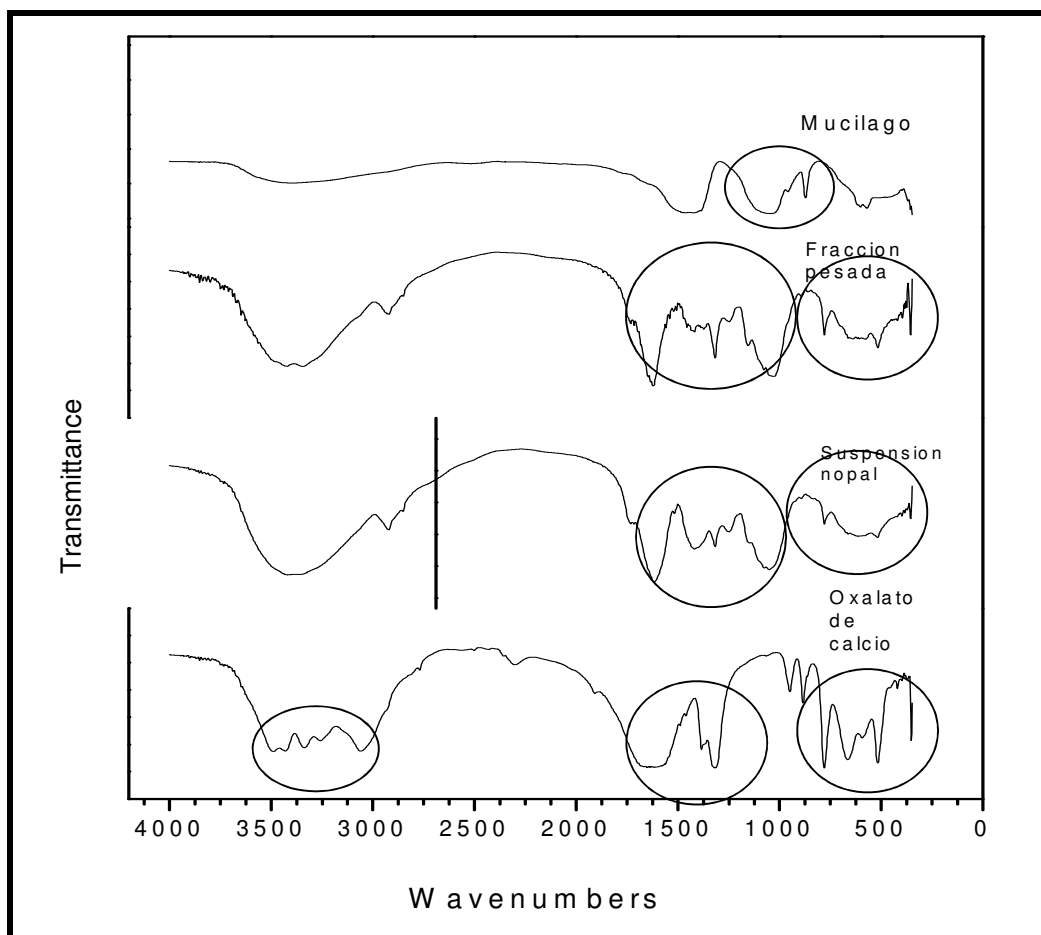


Figura 49. Fracciones de nopal evaluados por espectroscopia infrarroja

7.13 Resultados de objetivo particular 5

Espectroscopia de absorción atómica (EAA) para determinar la concentración de calcio en las fracciones de nopal de peso de 400 gramos, de edad de 100 días.

La concentración de calcio en cada una de las muestras a evaluar (nopal deshidratado, fracción soluble, fracción insoluble y mucílago) se puede apreciar en la Figura 50, donde se observa que la mayor concentración de calcio la tiene la suspensión de nopal deshidratado con 32.53 ± 0.09 . Sin embargo, esta fue la suma de sales de carbonato y oxalato de calcio. Después el valor del mucílago 18.10 ± 0.07 . Este dato correspondió a carbonato de calcio únicamente, ya que en los resultados de evaluación al mucílago, en las pruebas de microscopia electrónica de barrido, Difracción de rayos X y espectroscopia infrarroja solo identificó carbonatos de calcio. Posteriormente,



en la fracción insoluble el valor promedio fue de 13.22 ± 1.10 %, el cual también correspondió a la sumatoria de oxalato y carbonato de calcio correlacionándola con las pruebas de Difracción de rayos X, espectroscopia infrarroja y microscopia electrónica de barrido.

Por último, la fracción soluble no fue evaluada. El valor reportado corresponde al valor de la suspensión, menos la sumatoria de mucílago y fracción insoluble 1.21 ± 0.03 . Cabe aclarar que el mucílago representa la parte mayoritaria de la fracción soluble.

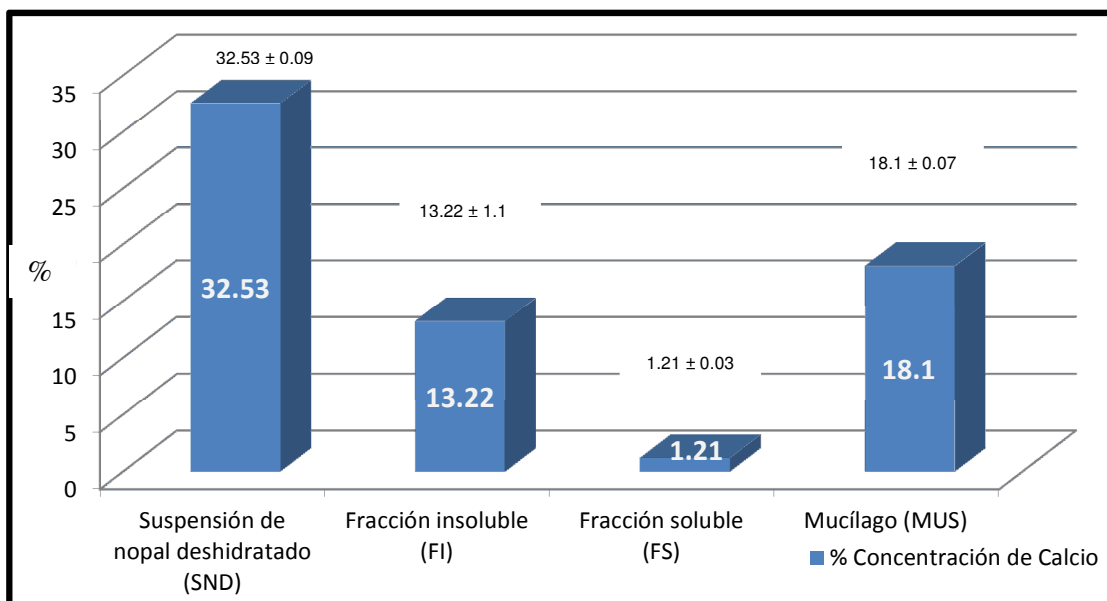


Figura 50. Se muestra la concentración de calcio en % (mg/kg) de la suspensión de nopal deshidratado, fracción insoluble, fracción soluble y mucílago de peso de 400 g (100 días de maduración).

7.14 Resultados objetivo particular 6

Técnica volumétrica y colorimétrica para determinar la concentración de carbonato de calcio en las muestras en las fracciones de nopal

La determinación de carbonatos de calcio se realizó tanto en la suspensión de nopal deshidratado como en la fracción soluble, mucílago y fracción insoluble.



Los resultados se muestran en la Figura 51, la gráfica corresponde al valor total encontrado en cada una de las fracciones, la cual presenta el porcentaje de este compuesto contenido en las diferentes muestras evaluadas.

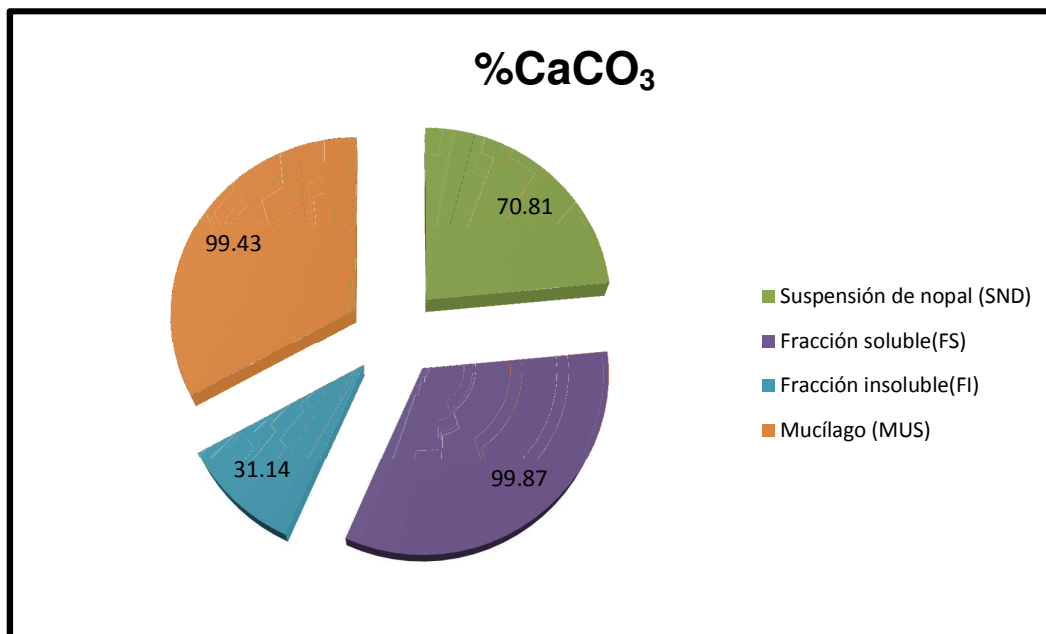


Figura 51. Se muestra la concentración de carbonato de calcio en % (mg/kg) de la suspensión de nopal deshidratado, fracción insoluble, fracción soluble y mucílago de peso de 400 g (100 días de maduración).

Se observa que el mucílago (MUS) tienen un contenido de 99.43% de carbonato de calcio, es decir no existe oxalato de calcio en esta fracción de acuerdo a la correlación con las otras técnicas. Difracción de rayos X, Espectroscopia infrarroja y microscopia electrónica de barrido únicamente reportaron presencia de sales de carbonato, el 0.67% faltante puede deberse a errores de cálculo o a manipulación de la muestra. De la misma manera, la fracción soluble (FS) presentó valores de 99.87 ± 0.31 de carbonato de calcio.

Es importante recordar que de esta fracción se precipitó el mucílago obtenido. Por otro lado en la fracción insoluble (FI) se obtuvo que el contenido de carbonato de calcio que contiene el 31.14 ± 0.42 del total de las sales de calcio. Por otro lado la suspensión de nopal deshidratado (SNP) presentó un contenido de 70.81 ± 0.27 de carbonato de calcio.



VIII. CONCLUSIONES



Las condiciones de extracción de la fracción soluble e insoluble en una centrifuga de discos fueron determinantes para obtener una mayor pureza de las fracciones tanto soluble como insoluble, así como para la correcta identificación de las sales de calcio.



El mucílago de nopal es un hidrocoloide que requiere para su extracción altas velocidades de giro en la centrifuga de discos, esto a fin de que se separe de la fracción insoluble. Así mismo bajas velocidades de alimentación en la centrifuga son indispensables para que su tiempo de residencia dentro del equipo sea prolongado y el tornillo (de gravedad) que restringe la salida de la fracción soluble debe estar cerrado para que se presenten unidades experimentales con alta pureza y buen rendimiento.



En la identificación de sales de calcio se encontraron oxalatos y carbonatos de calcio en todas las fracciones de nopal estudiadas: suspensión de nopal, fracción insoluble, fracción soluble y mucílago.



Por microscopia electrónica se logró identificar la morfología de las sales de calcio. Los oxalatos de calcio son peculiares drusas de mayor tamaño que las de los carbonatos de calcio, estos son cubos simétricos perfectamente definidos y de menor proporción que los oxalatos.



Se identificaron oxalatos de calcio en la suspensión de nopal deshidratado y en la fracción insoluble del nopal. Los carbonatos de calcio únicamente se encontraron en el mucílago de nopal y la fracción soluble.



La técnica de difracción de Rayos X corroboró que los oxalatos de calcio son parte de la fracción insoluble y de la suspensión de nopal deshidratado únicamente. Mientras que en la fracción soluble y en el mucílago se localizan sólo carbonatos de calcio.



La técnica de Infrarrojo demostró que en el mucílago, el cual forma parte de la fracción soluble, no hay presencia de oxalatos, a diferencia de la fracción insoluble y de la suspensión de nopal. Fue característica en el mucílago la presencia de carbonatos de calcio.



La espectroscopia de absorción atómica permitió obtener las concentraciones de calcio en cada fracción de nopal. La mayor concentración de calcio correspondió a la suspensión de nopal, posteriormente al mucílago, luego a la fracción insoluble y finalmente el de menor concentración fue la fracción soluble. Este contenido de calcio representa el total de las sales de calcio, es decir, la sumatoria de carbonato de calcio y oxalato de calcio presentes en una misma muestra.



La determinación de carbonato de calcio evidenció que esta sal está presente en todas las fracciones de nopal. Sin embargo, en el mucílago y la fracción soluble el contenido de calcio total corresponde únicamente a carbonato de calcio.



IX. Referencias bibliográficas

Arenas, A.J.A. 1999. Microscopía electrónica de barrido de bajo vacío. Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ). Ed. UNAM. México, D. F. p.13-35.

Arizmendi Coter, D. (2004). Optimización de dos compuestos plastificantes (glicerol y polietilenglicol) en la elaboración de una película plástica comestible obtenida a partir del mucílago de nopal de la especie *Opuntia tomentosa* Salm-Dyck. Universidad Autónoma del Estado de México. Consultado el 16 de Marzo de 2010. Disponible en: http://www.pncta.com.mx/pages/pncta_investigaciones_04h.asp?page=04e12#up

Amézquita, L.F. de J. 2000. Fundamentos de espectroscopía aplicada a la instrumentación química. Ed. UAG. p .13, 123-140.

A.O.A.C. (2000). Official Methods of Analysis. 17th edition. Official Methods 920.39, 920.86 925.10, 965.17, 984.13. Ed. by the Association of Official Analytical Chemists, Maryland, U.S.A.

Bravo-Hollis, H. 1978. Las cactáceas de México. Universidad Autónoma de México, Vol 1, 2da. Edición Editorial Universitaria, México. 30-40p.

Bronner, F., Pansu, D. 1999. Nutritional aspects of calcium absorption. *Journal of Nutrition*. 129:9-12.

Caliskan, M. 2000. The metabolism of oxalic acid, Turk, J. Zool 24, 103-106.

Cantwell, M. 1999. Manejo postcosecha de tunas y nopalitos. En G. Barbera, P. Inglese y E. Pimienta, eds. Agroecología, cultivo y usos del nopal. Estudio FAO Producción y Protección Vegetal, 132. Roma. pp. 126-143.

Cárdenas, A., Higuera-Ciapara, I. y Goycoolea, F. 1997. Rheology and aggregation of cactus (*Opuntia ficusindica*) mucilage in solution. J. Profess. Assoc. Cactus Develop. 2: 152-159.



Cardenas, A., Goycoolea, F.M. y Rinauto, M. 2008. On the gelling behaviour of nopal (*Opuntia ficus-indica*) low methoxyl pectin. *Carbohydrate Polymers*, 73: 212-222.

Castelo-Branco, Haya Palazuelos J. 2008. Osteoporosis y Menopausia, 2da. Edición, Buenos Aires, Madrid, Editorial Médica Panamericana.

Contreras-Padilla, M., Perez-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**, 2011 38–43.

Del-Valle, V., Hernández-Muñoz, P., Guarda, A., Galotto, M. J. 2005. Development of a cactus-mucilage edible coating (*Opuntia ficus indica*) and its application to extend strawberry (*Fragaria ananassa*) shelf-life. *Food Chemistry*. **91**, 751-756.

De Portela, M. L. 1993. Vitaminas y Minerales en Nutrición. 16, p. 78-9.

FAO/OMS. 1993. Worldwide Codex Standard for Nopal. Codex Stan 185-1993. Codex Alimentarius. Volume Five B. Tropical Fresh Fruits and Vegetables. Food and Agriculture Organization of the United Nations. World Health Organization. Roma.

Feugang-Magloire, J., Konarski, P., Zou, D., Stintzing-Conrad, F., Zou, C., 2006. Nutritional and medicinal use of Cactus pear (*Opuntia* spp.) cladodes and fruits, *Frontiers in Bioscience* 11, pp. 2574-2589.

Galati, E.M., Mondello, R., Giuffrida, D., Dugo, G., Miceli, N., Pergolizzi, S., and Taviano, M.F. 2003. Chemical characterization and biological effects of Sicilian *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. Fruit juice: Antioxidant and Antiulcerogenic Activity. *Journal Agriculture Food Chem.* **51**: 4903- 4908.

Gersnter G. 2002. El desafío de la fortificación Énfasis Alimentación No.4, Agosto/Septiembre,v 8(4) p. 62.68



Ginestra, G. Parker, M.L., Bennett, R.N., Robertson, J., Mandalari, G., Narbad, A., Lo Curto, R.B., Bisignano, G., Faulds, C.B., Waldron, K.W. 2009. Anatomical, chemical, and biochemical characterization of cladodes from prickly pear [*Opuntia Ficus-indica* (L). Mill.]. *J. Agric. Food Chem.* 57: 10323-10330.

Goldstein, G., Nobel, P.S. 1991. Changes in osmotic pressure and mucilage during low-temperature acclimation of *Opuntia ficus-indica*. *Plant Physiology*, 97:954-961.

González AM. 2008. Botánica Morfológica, Morfología de Plantas Vasculares, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina, 2001-2008 Botánica <http://www.biologia.edu.ar/botanica/tema13/13-9idioblastos.htm>

Granados, D., Castañeda, A. D. 2003, El nopal: Historia, fisiología, genética e importancia frutícola, Ed. Trillas, 4^a. Edición. p.p.227

Gutiérrez, E., Rojas-Molina, I., Pons-Hernández, J.L., Guzmán, H., Aguas-Angel, B., Arenas, J., Fernández, P., Herrera, G., Rodríguez, M.E. 2007. Study of calcium ion diffusion in nixtamalized quality protein maize as a function of the cooking temperature. *Cereal Chemistry*: **84**(2): 186-194.

Gutiérrez, E., Rojas-Molina, I., Rojas, A., Arjona, J.L., Cornejo- Villegas, M.A., Zepeda-Benítez, Y., Velázquez-Hernández, R., Ibarra-Alvarado, C., Rodríguez García, M. E. 2010. Microstructural changes in the maize kernel pericarp during cooking stage in nixtamalization process. *Journal of Cereal Science*: **51**, 81-88.

Henríquez-Rodríguez, M.A, Pérez Juana, Gasco Jorge, Rodríguez Orlando, Prieto Alicia, 2009. Caracterización Bioquímica Preliminar de los Principales Componentes del Mucílago del Cardón Dato (*Stenocereus griseus* (Haw.) F. Buxb), *Rev. Unell. Cienc. Tec.* 27:95-102



Jauregui-Zuñiga, D., Moreno Cárcamo A. 2004 La Bomineralización del Oxalato de Calcio en planta: Retos y Potencial. REB 23 (1): 18-23, 2004

Loubet González, AL (2008). Biodisponibilidad de calcio presente en harina de nopal (*Opuntia Ficus Indica*) en función de su estadio de maduración. Mineral de la Reforma, Hidalgo. Tesis Licenciatura Nutrición), UAEH. Instituto de Ciencias de la Salud. 100p.

Magloire, F. J., Konarski, P., Zou, D., Conrad, S. F., Zou, C. 2006. Nutritional and medicinal use of Cactus pear (*Opuntia* spp.) cladodes and fruits. *Frontiers in Bioscience*. **11**: 2574-2589.

Majdoub, H., Roudesli, S., Picton, L., Le Cerf, D., Muller, G., and Grisel, M. 2001. Prickly pear nopals pectin's from *Opuntia ficus indica* physico-chemical study in dilute and semi-dilute solutions. *Carbohydrate Polymers*, 46, 69–79.

Matsuhiro, B., Lillo, L. E., Sáenz, C., Urzúa, C. C., Zárate, O. 2006. Chemical characterization of the mucilage from fruits of *Opuntia ficus indica*. *Carbohydrate Polymers*. **63**: 263–267.

McConn, M.M. Nakata P.A., 2004, Oxalate reduces calcium availability in the pads of the prickly pear cactus through formation of calcium oxalate crystals, *J. Agric. Food Chem.*, 52: 1371–1374.

McGarvie, D., Parolis, H. 1979a. The mucilage of *Opuntia ficus-indica*. *Carbohydrate Research*, 69: 171-179.

Mc Murry, J (2004), *Organic Chemistry*, Hardcover, 1376 p.p.

Medina-Torres, L. 2005. Estudio reológico de mucílago de nopal y su efecto sinérgico con otros hidrocoloides de uso alimenticio. Tesis UNAM. Posgrado en Ciencias Químicas. México. p. 102.



Medina-Torres, L., Brito-De la Fuente E., Torrestiana-Sanchez, B. Katthain, R. 2000. Rheological properties of the mucilage gum (*Opuntia ficus-indica*). *Food Hydrocolloids*. 14: 417-424.

Medina-Torres, L. Brito-de la Fuente, E., Torrestiana-Sanchez, B. and Alonso, S. 2003. Mechanical properties of gels formed by mixtures of mucilage gum (*Opuntia ficus-indica*) and carrageenans. *Carbohydrate Polymers*, 52:143-150.

Montgomery, D.C., G.C. Runger, *Applied Statistics and Probability for engineers*, 1999, 2nd edition, Wiley, New York.

Nobel, P.S., Cavelier, J. y Andrade J.L. 1992. Mucilage in cacti: its apoplastic capacitance, associated solutes, and influence on tissue water relations. *Journal of Experimental Botany*, 43: 641-648.

Paredes, M. E., 2011. Establecimiento de las condiciones de centrifugación para la obtención de mucílago de nopal deshidratado. Tesis de Licenciatura. FES-C. UNAM.

Pimienta-Barrios, E. 1993. Vegetable cactus (*Opuntia*), in: Williams, J. T., *Pulses and Vegetables*, Chapman & Hall, London, pp. 177 –19.

Remington. 1998. *Farmacología*. 19a edición. 1998, 54, p. 1390.

Rodríguez-Félix, A. 2002. Postharvest physiology and technology of cactus pear fruits and cactus leaves. *Acta Hort*. 581: 191-199.

Rodríguez-García, M.E., de Lira, C., Hernández-Becerra, E., Cornejo-Villegas, M.A., Palacios-Fonseca, A.J., Rojas-Molina, I., Reynoso, R., Quintero, L.C., Del-Real, A., Zepeda, T.A., Muñoz-Torres, C. 2007. Physicochemical characterization of nopal pads (*Opuntia Ficus indica*) and vacuum nopal powders as a function of the maturation. *Plant Foods Hum. Nutr.* 62:107-112.

Sáenz, C; Sepúlveda, E; Matsuhiro, B. (2004). *Opuntia spp.* mucilage's: a functional component with industrial perspectives. *Journal of Arid Environments*. 57: 275-290.



Sáenz C., Berger H., Corrales García, J., Galletti, L., García de Cortázar, V., Higuera, I., Mondragón, C., Rodríguez-Félix, A., Sepúlveda, E., Varnero, M.T. 2006 .Utilización agroindustrial del nopal. Boletín de servicios agrícolas de la FAO No. 162. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación, Roma, Italia.

Sakhaee K, Bhuket T, Adams-Huet B, Rao DS. Meta-analysis of calcium bioavailability: a comparison of calcium citrate with calcium carbonate. *Am J Ther* 1999; 6:313-21.

Schulz H, y Baranska M, 2006, Identification and quantification of valuable plant substances by IR and Raman Spectroscopy, Elsevier, Science Direct (43) 13-25.

Sepúlveda, E.; Sáenz, C.; Aliaga, E.; Aceituno, C. (2007). Extraction and characterization of mucilage in *Opuntia* spp. *Journal of Arid Environments*. **68**: 534–545.

Skoog, A. D. and Learly, J. J. 1995. Análisis Instrumental. Ed. Mc Graw-Hill. México, D.F. p. 227-295.

Sugimura Y, Mori T, Nitta I, Kotani E, Furusawa T, Tatsumi M, Kusakari S, Wada Masao, Moritas Yohji, 2009. Calcium Deposition in Idioblasts of Mulberry Leaves, 1999.

Stintzing, F.C., Carle, R. 2005. Cactus stems (*Opuntia* spp.): A review on their chemistry, technology, and uses. *Mol. Nutr. Food Res*. 49: 175-194.

Theobald, H.E., 2005, British Nutrition Foundation, *Nutrition Bulletin*, 30, 237-277.

Thongboonkerd, V., Semangoen, S., Chutipongtanate, 2006, Factors determining types and morphologies of calcium oxalate crystals: Molar concentrations, buffering, pH, stirring and temperature, *Clinic Chem*. 367:120-131.



Trachtenberg, S., Mayer, A. M. 1981. Composition and properties of *Opuntia ficus-indica* mucilage. *Phytochemistry*, 20: 2665-2668.

Uma NP., Pahuja, DN., Samuel, AM. 2001. Calcium bioavailability: an in vivo assessment, *Nutrition Research*. 21(4), p. 667-75.

Varetri EL., Volponit CR. 1995. Characterization of Crystals in Plant Cells Using FT-IR Microspectroscopy, *Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, Argentina, Volumen 49, Number 4, 1995.*

Vincent, R., Nakata A. 2005. Calcium Oxalate in plants: formation and function, *Annual Review of plant biology*, 56:41-71.

Weirong C, Xiaohong G, Jian T. 2010. Extraction, purification, and characterization of the polysaccharides from *Opuntia milpa alta*, *Carbohydrate polymers, Czech J. Food Sci.*, **28**: 108–116

Páginas Web:

Instituto Nacional de Ecología. Nopal verdura, <http://www.ine.gob.mx/ueajei/publicaciones/libros/71/nverdura.htm>, 2011.

SAGARPA, 2011, Producción de nopal 2011, www.sagarpa.gob.mx/cgcs.