

Caracterización del Jugo de Tuna (*Opuntia ficus-indica*) por Análisis Regresivo y Micrográfico

Silvia RODRIGUEZ¹, Sara MACIAS¹, Corina ORPHEE²,
Etile SPEGAZZINI³, Marta NAJERA³ y Norberto CRIVARO⁴.

¹Cátedra de Bromatología, Depto de Industrias Alimentarias, Facultad de Agronomía y Agroindustrias y
²Cátedra de Química, Facultad de Cs. Exactas y Tecnologías, Univ. Nac. de Sgo. del Estero, Av. Belgrano(S) 1912,
(4200) Santiago del Estero, Argentina. ³Especialidad Farmacobotánica, LABRAM, Depto de Cs. Biológicas,
Facultad de Cs. Exactas, Univ. Nac. de La Plata, 47 y 115, (1900) La Plata, Argentina. ⁴Area Bromatología, Div.
Bioquímica Aplicada, Dpto. de Tecnología, Univ. Nac. de Luján, Cruce Rutas 5 y 7, (6700) Luján, Argentina.

RESUMEN. El objetivo del presente trabajo fué el de encontrar un sistema mediante el cual se pueda caracterizar y determinar la autenticidad del jugo de tuna y de otros subproductos como el arrope (jugo pulposo concentrado). El mismo se basa en el análisis de constituyentes químicos, constantes físicas del jugo natural y el estudio micrográfico del fruto de tuna de la variedad amarilla sin espinas. Los valores obtenidos se analizaron mediante parámetros estadísticos elementales y de correlación y regresión lineal. Los estudios conforman un sistema de parámetros no tradicionales que permiten caracterizar con mayor seguridad el alimento y podrían tomarse como base para el control de productos derivados. Del estudio realizado se proponen los siguientes estimadores válidos de los parámetros que caracterizan la autenticidad de jugos y jugos y pulpas de *Opuntia ficus-indica*: (a) sólidos solubles a 20°C: 14,48 a 15,09 g/100 g de frutos \pm 0,74 del valor calculado en función de acidez total titulable, pectina, potasio y grado de madurez, para la fruta natural; (b) acidez total titulable: 0,086 a 0,095 \pm 0,216 del valor calculado en función de pH, peso específico relativo y grado de madurez, \pm 0,008 del valor calculado en función de azúcares totales, azúcares reductores, peso específico relativo y grado de madurez, para la fruta natural y \pm 0,008 del valor calculado en función de azúcares totales, azúcares reductores, glucosa y grado de madurez, para la fruta natural; (c) grado de madurez (SS/AC): 158,39 a 176,24 \pm 0,20 del valor calculado en función de sólidos solubles, acidez total titulable, azúcares totales, conductividad y peso específico relativo, para la fruta natural; (d) peso específico relativo a 20 ° C: 2,527 a 2,712 g/cm³; (e) pH a 20 ° C: 6,161 a 6,236; (f) azúcares totales: 10,199 a 10,846 g/100 g; (g) azúcares reductores: 8,235 a 9,230 g/100 g; (h) glucosa: 6,291 a 6,873 g/100 g. Los caracteres micrográficos de diagnóstico del producto manufacturado son los siguientes elementos histológicos del fruto: (a) los gloquidios o emergencias punzantes en el caso de queden restos de epicarpio una vez "pelados" los frutos; (b) las drusas presentes en la hipodermis (cristales romos) y las del mesocarpio (cristales punzantes); (c) el tipo de vasos xilemáticos (anillados-espiralados); (d) las células pétreas del endocarpio; (e) células de paredes gruesas de coloración castaño oscura de la cubierta seminal externa; (f) células reticuladas de la epidermis seminal interna; (g) células del tejido de reserva de la semilla conteniendo granos de almidón.

SUMMARY. "Characterization of prickly pear juice (*Opuntia ficus-indica*) by means of regressive and micrographic analysis". The aim of the present work was to find a system by

PALABRAS CLAVE: Análisis Físico y Químico; Análisis Micrográfico; *Opuntia ficus-indica*; Tuna.

KEY WORDS: Micrographic Study; *Opuntia ficus-indica*; Physical and chemical analysis; Prickly pear.

which the genuineness of the "prickly pear" (*Opuntia ficus-indica*) juice and other sub-products like pulpy concentrated juice can be characterized and determined. This system is based on the analysis of the chemical constituents as well as the physical constants of the natural juice and the micrographic study of the yellow variety of the fruit without prickles. The values obtained were analysed by means of elementary statistical parameters and linear correlation and regression and provides a system of non-traditional parameters that allows a more reliable characterisation of the food that could be taken as the basis for the control of the derived products. The following parameters are proposed to characterize the genuineness of juice and juice plus pulp of *Opuntia ficus-indica*: (a) soluble solids at 20 °C: 14.48 to 15.09 g/100g \pm 0.74 of the calculated value according to total titrable acidity, pectin, potassium, and grade of maturity for the natural fruit; (b) total titrable acidity: 0.086 to 0.095 \pm 0.216 of the calculated value according to pH, relative specific gravity, and grade of maturity for the natural fruit, \pm 0,008 of the value calculated according to the total sugar, reducing sugars, relative specific gravity, and grade of maturity, for the natural fruit, and \pm 0,008 of the value calculated according to the total sugar, reducing sugar, glucose, and grade of maturity, for the natural fruit; (c) grade of maturity (SS/AC): 158.39 to 176.24 \pm 0.20 of the value calculated according to the soluble solids, total titrable acidity, total sugar conductivity, and relative specific gravity for the natural fruit; (d): relative Specific gravity at 20 °C: 2.527 to 2.712; (e) total sugars: 10.199 to 10.,846 g/100g; (f) invert or reducing sugars: 8.235 to 9.230 g/100 g; (g) glucose: 6.291 to 6.873 g/100 g. The micrographic diagnostic characters of the manufactured product are the histologic elements of the fruit: (a) pungent emergencies when epicarp rests remain; (b) the presence of obtuse crystals in the hypodermis and sharp crystals in the mesocarp; (c) ring- and spiral-shaped xylem vessels; (d) the endocarp stony (rocky) cells; (e) dark-brown cells with broad cell wall of the outer seed cover; (f) reticulated cells of the inner seed epidermis; (g) seed storage cells containing starch grains.

INTRODUCCIÓN

La tuna (*Opuntia ficus-indica*) se desarrolla con éxito y en forma espontánea en ambientes desérticos. Debido a esto, se ha asociado el cultivo con zonas marginales para la agricultura tradicional y es una alternativa para la explotación de terrenos en zonas áridas o semiáridas de baja fertilidad, al prosperar en suelos mas bien pobres y secos ¹. Takashi ² considera que es un fruto con productividad potencial en tierras áridas, así como su utilización para productos futuros.

El consumo de esta fruta se ha incrementado en los últimos años en México, Chile, Brasil e Italia ³. En los mercados europeos y de EE.UU. se considera a la tuna como un fruto exótico. Por ello en algunos países como México, Chile, Brasil, EE.UU. y Argentina se ha comenzado a explotar este cultivo en forma comercial y a elaborarse subproductos ⁴. En Chile este fruto se consume como fruta fresca y también como jugo obtenido en los hogares y en locales comerciales de alimentos naturales ⁵. En Argentina también se consume como fruta y además se elabora arrope de tuna, el que se comercializa como alimento regional en la zona del noroeste.

Se han realizado diversos estudios sobre la caracterización química de este fruto, que crece en forma espontánea en países como Chile ^{5,6}, Egipto ⁷, Arabia Saudita ⁴ y México ⁸. Rodríguez *et al.* ⁹ realizaron un estudio comparativo sobre la composición físico-química de dos variedades de tuna, la amarilla sin espinas, y la amarilla con espinas y presentaron un resumen comparativo de diferentes estudios referidos a la composición química de la tuna de los países citados anteriormente,

del cual se desprende que existen diferencias en algunos parámetros tales como sólidos solubles, acidez, pectina, ácido ascórbico y azúcares totales, entre otros, según el país de procedencia del fruto. Ello se debe a que si bien el cactus es originario de Norteamérica, a través de los siglos se extendió desde su punto de origen al norte de África y países europeos del Mediterráneo. De allí surgieron distintos cultivares, y estos a su vez sufrieron adaptaciones en cada región ⁴.

Crivaro *et al.* ¹⁰ caracterizaron el jugo de naranja y Crivaro & Carrón ¹¹ el jugo de pomelo, determinando constantes físicas y características químicas de los jugos naturales y sometiénolas a análisis estadístico y de correlación y regresión, lo que les permitió desarrollar ecuaciones matemáticas que debían cumplirse en los jugos comerciales, para poder considerarlos genuinos. En base a lo mencionado se plantea la hipótesis de que por medio de estudios micrográficos es posible determinar si un producto está elaborado con el fruto de tuna y a través de algunos parámetros físico-químicos de la fruta establecer ecuaciones a las que se ajustarán los jugos elaborados para determinar su autenticidad.

En este trabajo se propone desarrollar un sistema analítico, encontrando relaciones entre las variables físicas-químicas del jugo de tuna mediante análisis de correlación y regresión múltiple, y determinando elementos histológicos del fruto, por análisis micrográfico, con el objetivo de caracterizar la autenticidad de la fruta y detectar manipulaciones comerciales derivadas.

MATERIALES Y METODOS

Material biológico

Se trabajó con tunas de la variedad amarilla sin espinas, siendo esta la variedad más difundida en el mundo, cosechadas durante el período enero-marzo de 1996, en la Provincia de Santiago del Estero (principal región de producción de tuna en Argentina), siguiendo un diseño completamente aleatorizado.

Las frutas fueron obtenidas en el mismo período de tiempo de trece localidades distintas de los siguientes Departamentos Provinciales: Capital, Banda, Robles, Guasayan, Río Hondo y Choya, por ser las principales zonas productoras. Se analizaron 36 muestras (2-3 de cada localidad, según la producción), cada una de ellas estuvo constituida por 24 tunas cosechadas al azar del tunal de igual origen geográfico y frutos de igual madurez, tomándose como índice el color de fondo del fruto, que osciló de amarillo-verdoso a verde-amarillento.

Obtención del jugo

Los frutos de cada muestra se lavaron, escurrieron, pesaron y pelaron manualmente. Se pesaron las cáscaras. Posteriormente se trituraron en una procesadora de alimentos, de uso doméstico.

Determinaciones físico-químicas

Obtenido el jugo pulposo se realizaron en forma inmediata las siguientes determinaciones por triplicado:

Sólidos solubles (SS). Con un refractómetro de mano y se expresó sin corregir la acidez ni los sólidos insolubles, en g/100 g de jugo a 20 °C.

pH. Por potenciometría, a 20 °C.

Acidez total titulable (AC). Según la norma A.O.A.C. Sec. 967.21 y se expresó en g de ácido cítrico anhidro/100 ml de jugo ¹².

Peso específico relativo a 20 °C (PER). Por picnometría según la norma A.O.A.C. Sec.955.37 y se expresó en g /cm³ de jugo ¹².

Conductancia específica (CE). Se determinó a 20° C según la norma A.O.A.C. Sec.973.40 y se expresó en mho/cm ¹².

Azúcares totales y reductores (Az. tot. y Az. red.). Se determinó según la norma A.O.A.C. Sec. 925.36 y se expresó en g/100 g de jugo ¹².

Glucosa. Se determinó según método enzimático GOD-PAP (Trinder color), y se expresó en g/100 g de jugo.

Acido ascórbico (Ac. ascorb.). Según la norma A.O.A.C. Sec. 966.16 y se expresó en mg/100g de jugo ¹².

Potasio (K). Según la norma A.O.A.C. Sec. 924.09 y se expresó en mg/100g de jugo ¹².

Fibra bruta. Según la norma A.O.A.C. Sec. 930.10 y se expresó en g/100g de jugo ¹².

Pectina. Según la norma A.O.A.C. Sec. 930.10 y se expresó como g. de pectato de calcio/100g de jugo ¹².

Análisis micrográfico

Muestras representativas se preservaron en líquido conservador y posteriormente se efectuaron cortes transversos y longitudinales con micrótopo y navaja, además de dislacerados, para el reconocimiento de los tipos celulares. Las observaciones de dichos frutos se efectuaron con microscopio Wild M 20, equipado con tubo de dibujo. Los diseños obtenidos son originales. Para el reconocimiento de los distintos componentes químicos se usaron los siguientes reactivos: clorioduro cínico para celulosa, floroglucina clorhídrica para lignina, azul de metileno para mucílagos y ácido clorhídrico concentrado para oxalato de calcio.

Análisis estadístico y de correlación y regresión

Se utilizó un software comercial (Microsoft Excel, versión 5.0). Las variables se seleccionaron por el método "de ascenso". La selección de las ecuaciones se basó en los resultados de las pruebas de hipótesis sobre los coeficientes de correlación y de regresión, así como en la utilidad de las variables para los fines de predicción y de estimación. La evaluación de la ecuación de regresión se efectuó por el coeficiente de correlación múltiple R y el de determinación R².

RESULTADOS Y DISCUSION

Análisis físico-químico y determinaciones estadísticas

En la Tabla 1 se presentan los datos estadísticos elementales de las variables y relaciones estudiadas y en la Tabla 2 un resumen del análisis de correlación y regresión múltiple con mejores valores de R. Los valores obtenidos del análisis de los frutos pertenecientes a localidades del Departamento Rio Hondo se corresponden con los obtenidos por Rodríguez *et al.* ⁹, no encontrándose diferencias significativas entre las cosechas de diferentes años.

Variable	X(1)	S (2)	CV % (3)	IC 95,5 % (4)
SS (g /100g)	14,79	0,90	6,11	14,48 a 15,09
PER	1,033	0,007	0,66	1,019 a 1, 035
CE (mho /cm)	2,619	0,273	10,44	2,527 a 2,712
PH	6,199	0,111	1,80	6,161 a 6,236
AC (g. ác. cítr. anh./100 ml)	0,091	0,012	13,26	0,086 a 0,095
Az. Tot. (g /100g)	10,522	0,957	9,09	10,199 a 10,846
Az. Red. (g /100g)	8,732	1,470	16,84	8,235 a 9,230
Glucosa (g /100g)	6,592	0,859	13,05	6,291 a 6,873
SS/AC	167,32	26,37	15,76	158,39 a 176,24
Pectina (g de pect. de Ca/ 100 g)	0,25	0,21	81,73	0,18 a 0,32
Ac. Ascorb.(mg /100g)	20,16	2,11	10,46	19,44 a 20,87
Fibra (g /100g)	4,29	1,07	24,82	3,93 a 4,65
Cenizas (mg /100g)	0,48	0,15	31,60	0,42 a 0,53
K (mg /100g)	122,24	47,62	38,95	106,19 a 138,35

Tabla 1. Estadísticos elementales (ver abreviaturas en el texto). (1) Media aritmética; (2) Desviación estándar; (3) Coeficiente de variación; (4) Intervalo de confianza para el 95,5% de los casos.

En esta primera etapa se presentan algunas características de autenticidad de esta fruta. Entre las opciones dadas por el análisis físico-químico y estadístico elegimos los sólidos solubles y la acidez total titulable, por lo que son consideradas aisladamente y relacionadas entre sí con otras variables determinadas.

Para los sólidos solubles la estadística elemental arroja un valor medio de 14,79 g/100g (°Brix), con un intervalo de confianza para el 95,5% de los casos de 14,48 a 15,09 (Tabla 1). La acidez total titulable por su parte presenta una media de 0,091 g de ácido cítrico anhidro/100 ml y un intervalo de confianza para el 95,5% de los casos de 0,086 a 0,095. Al igual que Berger *et al.*¹³ consideramos como tunas maduras aquellas que presentaron un color de fondo que varía entre amarillo-verdoso y verde-amarillento. Teniendo en cuenta que las determinaciones se efectuaron sobre muestras con madurez organoléptica, se relacionaron estas dos variables, a semejanza de lo realizado para otros frutos, y definimos el "grado de madurez" como el cociente SS/AC, proponiendo un nuevo parámetro para la cosecha, puesto que no hubo diferencias significativas ($p > 0,05$) de este cociente para todas las muestras individuales. El valor medio de este nuevo parámetro fue 167,32 con un intervalo de confianza para el 95,5% de los casos de 158,39 a 176,24. Es decir, que para que un fruto sea aceptado como maduro deberá arrojar al análisis valores comprendidos entre los intervalos de confianza consignados, para esas variables. No obstante, en un producto derivado, como un jugo o jugo y pulpa, podría efectuarse alguna manipulación que mantuviera artificialmente esos valores, como por ejemplo adicionar azúcar, o ácido, o ambas cosas a la vez, o aún efectuar una dilución y adición simultánea de otros constituyentes. Por ello se pensó que era conveniente, además de establecer los valores límites de variación normal de los parámetros considerados, relacionarlos con otras variables de modo de obtener modelos matemáticos en los que pudieran evidenciarse modificaciones

provocadas en la composición normal, tomando como base trabajos anteriores^{10,11} sobre jugos de otras frutas. Para acceder a esos modelos se aplicó el análisis múltiple regresivo, que permitió arribar a ecuaciones en las que las variables consideradas se relacionan matemáticamente entre sí, de modo que si se varía una de ellas automáticamente se invalidará la igualdad; es decir, permiten arribar a resultados más confiables acerca de la autenticidad del alimento.

Con respecto a la pectina, puede observarse la gran dispersión que arrojan los resultados, debido probablemente a la variabilidad natural del fruto, razón por la cuál no fue incluida entre los parámetros de caracterización.

De todas las ecuaciones múltiples regresivas a las que se arribó después de relacionar entre sí la totalidad de las variables analizadas, se seleccionaron aquellas que arrojaron mejor valor de R, y que figuran en la Tabla 2. Así, la ecuación 1 permite establecer que para que el alimento elaborado (jugo, jugo y pulpa) se considere genuino, deberá presentar un valor de SS determinado analíticamente que se encuentre dentro del intervalo de confianza de $\pm 0,74$ (es decir, 2 desvíos standard = $2 \times 0,37$) del valor calculado según la citada ecuación a partir de los datos analíticos de acidez total titulable, pectina, potasio y grado de maduración. Es evidente que una manipulación escrupulosamente realizada, en la que se modifiquen armónicamente todas las variables involucradas de modo de no alterar el valor que teóricamente deben presentar los sólidos solubles, podrá pasar inadvertida al aplicar este sistema de control, pero ello resultaría demasiado complejo desde el punto de vista práctico y de dudosa rentabilidad.

El mismo criterio es aplicable al resto de variables relacionadas matemáticamente. En esta ocasión hemos dejado de lado la posible inferencia de conclusiones particulares para cada zona de producción o de otras de interés para la Fisiología Vegetal o la Botánica en general, que no son objeto de este trabajo, a favor de una generalización acorde con el criterio bromatológico del mismo, que permita incrementar la seguridad en la formulación de conclusiones acerca de la autenticidad de los alimentos, ya que no bastará con que la variable considerada arroje valores analíticos dentro de los límites establecidos por las reglamentaciones, surgidos de la estadística elemental, sino que además deberán cumplir los derivados de las relaciones matemáticas establecidas por el análisis regresivo.

Análisis micrográfico

Los frutos, de forma de urna ovoidal, son denominados "bayas"¹⁴⁻¹⁶. Por provenir de un gineceo ínfero el receptáculo se consolida con el pericarpio; son carnosos, variando su color entre blanco amarillento, rojo o púrpura según la especie, variedad y grado de maduración. Poseen gran cantidad de semillas. La superficie externa presenta aréolas de distribución espiralada, en las que aparecen tricomas o pelos y cerdas o emergencias punzantes (gloquidios; Fig. 1,C).

El epicarpio está constituido por células poligonales cuya membrana externa se presenta engrosada y cutinizada, mientras las radiales son delgadas (Fig. 1,a). Estomas ciclocíticos con cámara subestomática muy alargada (Fig. 1, A,e). Sobre las aréolas se insertan abundantes tricomas pluricelulares, uniseriados, cuyas células basales disminuyen de tamaño hacia el extremo distal (Fig. 1,B), mientras las emergencias punzantes, cerdas o gloquidios, poseen puntas dirigidas hacia abajo (Fig. 1,C).

tenida en el perisperma, de células de gruesa pared externa con granos de almidón cuyo tamaño oscila entre 1 y 8 μm de diámetro (Fig. 2,C) y en el endosperma, formado por una capa de células que presentan granos de aleurona. El embrión posee cotiledones de células isodiamétricas con granos de aleurona de hasta 10 μm .

CONCLUSIONES

Como estimadores válidos físico-químicos de los parámetros que permiten caracterizar la autenticidad de jugos y de jugos y pulpas de *Opuntia ficus-indica* se proponen los siguientes:

Sólidos solubles a 20° C: 14,48 a 15,09 g/100g \pm 0,74 del valor calculado en función de acidez total titulable, pectinas, potasio y grado de madurez, para la fruta natural.

Acidez total titulable: 0,086 a 0,095 \pm 0,216 del valor calculado en función de pH, peso específico relativo y grado de madurez; \pm 0,008 del valor calculado en función de azúcares totales, azúcares reductores, peso específico relativo y grado de madurez, para la fruta natural y \pm 0,008 del valor calculado en función de azúcares totales, azúcares reductores, glucosa, y grado de madurez, para la fruta natural.

Grado de madurez (SS/AC): 158,39 a 176,24 \pm 0,20 del valor calculado en función de sólidos solubles, acidez total titulable, azúcares totales, conductividad y peso específico relativo, para la fruta natural.

Peso específico relativo a 20 °C: 2,527 a 2,712.

pH a 20 °C: 6,161 a 6,236.

Azúcares totales: 10,199 a 10,846 g/100 g.

Azúcares reductores: 8,235 a 9,230 g/100 g.

Glucosa: 6,291 a 6,873 g/100 g.

A ellos deben sumarse los parámetros aportados por el análisis micrográfico, en base a los elementos histológicos característicos de diagnóstico, que permiten determinar la autenticidad de la materia en el producto manufacturado:

Elementos del fruto: (a) los gloquidios o emergencias punzantes en el caso de que queden restos de epicarpio una vez "pelados" los frutos; (b) las drusas presentes en la hipodermis (cristales romos) y las del mesocarpio (cristales punzantes); (c) el tipo de vasos xilemáticos: (anillados-espiralados); (d) las células pétreas del endocarpio.

Elementos de la semilla: (a) células de paredes gruesas de coloración castaño oscura, de la cubierta seminal externa; (b) células reticuladas de la epidermis interna; (c) células de tejido de reserva conteniendo granos de almidón.

Agradecimientos. Agradecemos a la Bqca. Silvina Generoso por su colaboración en algunas tareas de determinación de parámetros físico-químicos del jugo de tuna.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Almendares, L, H. Berger & C. Saenz, C. (1994) *Actas del VI Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 458-460
2. Takashi, J. (1990) *Japan. J. Tropic. Agric.* **34**: 94-9
3. Cacioppo, D. (1992) *L'Infomatore Agrario* **33**: 1-8
4. Sawaya, W.N., H.A. Khatchadourian, W.M.Safi & H.M. Al-Muhammad (1983) *J. Food Technol.* **18**: 183-93
5. Saenz, C.H. & E.E. Sepúlveda (1993) *Alimentos (Chile)* **18**: 29-32
6. Saenz, C. (1985) *Alimentos (Chile)* **10**: 47-9
7. Askar, A. & S.K. El-Samahy (1981) *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* **77**: 279-81
8. Paredes-Lopez, O. & R. Rojo-Burgos (1973) *Tecnología de Alimentos (México)* **8**: 237-40
9. Rodríguez, S., C. Orphee, S. Macías, S. Generoso & L. Gomes García (1996) *La Alimentación Latinoamericana* N° 210, 34-37
10. Crivaro, N.O., R.Carrón & M. Nájera (1985) *Anal. Bromatol. (Madrid)* **37**: 293-305
11. Crivaro, N.O. & R. Carrón, R. (1990) *Anal. Bromatol. (Madrid)* **42**: 151-65
12. A.O.A.C. (1993) *"Methods of Analysis"*, 15th. ed., AOAC; Washington
13. Berger, H., X.R. Ortúzar, C. Auda, A.L. Lizana & A.P. Reszczynsky (1978) *Inv. Agrícola (Chile)* **4**: 21-4
14. Boelcke, O. (1981) *Plantas Vasculares de la Argentina. Nativas y Exóticas*. Ed. FECIC, Argentina
15. Parodi, L.R. (1964) *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería*, Vol. I y II. Ed. ACME S.A.C.I., Buenos Aires
16. Winton, A.L. & K.B. Winton (1935) *The structure and composition of foods*, Vol. II. J. Wiley and Sons Inc., New York