



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

**FACULTAD INGENIERIA EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES**

CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

**EXTRACCIÓN DE BETALAINAS A PARTIR DE LAS HOJAS DE
REMOLACHA *Beta vulgaris* POR LIXIVIACIÓN.**

Tesis previa a la obtención del título de ingeniero agroindustrial

Autor: NATHALY SILVANA JARAMILLO VIRACUCHA

Directora: Bioq. Valeria Olmedo Msc.

Ibarra-Ecuador

2023



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE
BIBLIOTECA UNIVERSITARIA
AUTORIZACIÓN DE USO Y PUBLICACIÓN

A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

1. IDENTIFICACIÓN DE LA OBRA

En cumplimiento del Art. 144 de la Ley de Educación Superior, hago la entrega del presente trabajo a la Universidad Técnica del Norte para que sea publicado en el Repositorio Digital Institucional, para lo cual pongo a disposición la siguiente información:

DATOS DE CONTACTO			
CÉDULA DE IDENTIDAD:	1725913667		
APELLIDOS Y NOMBRES:	Jaramillo Viracucha Nathaly Silvana		
DIRECCIÓN:	Quito, parroquia Lloa, calle quito y 8 de septiembre.		
EMAIL:	nsjaramillov@utn.edu.ec		
TELÉFONO FIJO:	3816068	TELÉFONO MÓVIL:	0987915576

DATOS DE LA OBRA	
TÍTULO:	Extracción de betalaínas a partir de las hojas de remolacha <i>Beta vulgaris</i> por lixiviación
AUTORA:	Jaramillo Viracucha Nathaly Silvana
FECHA:	15/2/2023
PROGRAMA:	<input checked="" type="checkbox"/> PREGRADO <input type="checkbox"/> POSGRADO
TITULO POR EL QUE OPTA:	Ingeniero Agroindustrial
ASESOR /DIRECTOR:	Bioq. Valeria Olmedo MSc.

2. CONSTANCIAS

El autor manifiesta que la obra objeto de la presente autorización es original y se la desarrolló, sin violar derechos de autor de terceros, por lo tanto la obra es original y que es el titular de los derechos patrimoniales, por lo que asume la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldrá en defensa de la Universidad en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los quince días del mes de febrero de 2023

LA AUTORA:

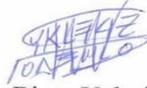


.....

Jaramillo Viracucha Nathaly Silvana

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por la Srta. Nathaly Silvana Jaramillo Viracucha, con cedula 172591366-7, bajo mi supervisión.



Bioq. Valeria Olmedo
DIRECTOR DE TESIS

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, quiero agradecer a Dios por darme salud y bienestar durante toda mi vida universitaria, por ser mi guía y fortaleza en los buenos y malos momentos.

A mis queridos padres, Luis y Yolanda por siempre creer en mí e impulsarme a cumplir cada una de mis metas, me dieron el apoyo incondicional aun cuando todo parecía imposible, gracias a sus consejos, valores y principios hoy soy una gran mujer y gracias a ustedes estoy culminando mi carrera.

A mis hermanas Mishelle y Belén gracias por los consejos y el apoyo en cada etapa de mi vida y por siempre sostener mi mano en los momentos más difíciles.

A mis amados abuelitos Antonio (+), Encarna (+), Amador y Lucinda, quiero que sepan que han sido un gran ejemplo de superación y perseverancia para mí y que gracias a ustedes hoy estoy cosechando estos frutos.

A mis padrinos Abraham y Rosita, infinitas gracias por el apoyo brindado, por el acogirme en su hogar en diversas ocasiones de esta etapa, en especial a mi madrina Rosita por ser mi segunda mamá que con su amor y consejos brindados esto a llegado a ser posible gracias a ustedes también.

Agradezco a todos los docentes de la Universidad Técnica del Norte que, con su sabiduría, conocimiento y apoyo, permitieron desarrollarme como persona y profesional, en especial a mi tutora Bioq. Valeria Olmedo quien desde el primer momento me brido su amistad, confianza, su paciencia y sobre todo por compartir sus conocimientos y tiempo, a lo largo del desarrollo de esta investigación.

En el camino de esta increíble etapa encontré personas incondicionales que iluminaron mi vida que, con su apoyo, paciencia, consejos y amor, hoy estoy culminando esta etapa, gracias amigos: MA, A.B, EA, PS, OC, CC, KA, DG, GG, como olvidar a mis amigos de Florecal con quienes compartí conocimientos, lágrimas, alegrías: LP, LB, FQ, EB, FP, NT y a todos quienes aportaron un con granito de arena gracias, por tanto.

Nathaly Jaramillo

DEDICATORIA

Este logro académico se lo dedico:

A mi madrecita Yolanda, por ser una mujer muy trabajadora, valiente y que ante nada se deja vencer, a ti mamita que cada día te esforzaste por verme cumplir esta meta, que, con tus consejos, amor y algunas veces regaños hoy todo está dando frutos.

A mis hermanas por siempre sentirse orgullosas de mí, por ser mi apoyo incondicional y por no dejar nunca sola a mamá.

A mis angelitos Antonio y Encarna que desde el cielo cuidan de mí, a pesar de que ahora no están conmigo, se que su alma si lo está y porque era su anhelo verme alcanzar mis sueños, este logro esta dedicado para ustedes con todo el amor del mundo. Vivirán siempre en mi corazón papitos.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

SUMMARY	x
CAPÍTULO I.....	1
INTRODUCCIÓN	1
1.1 PROBLEMA	1
1.2 JUSTIFICACIÓN.....	2
1.3 OBJETIVOS.....	3
1.3.1OBJETIVO GENERAL.....	3
1.3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO.....	3
1.4 HIPÓTESIS	3
1.4.1 ALTERNATIVA	3
1.4.2 NULA	3
CAPÍTULO II	4
MARCO TEÓRICO	4
2.1 GENERALIDADES DE LA REMOLACHA <i>BETA VULGARIS</i>	4
2.1.2 CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA DE LA REMOLACHA.....	4
2.1.3 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA.....	5
2.1.4 BENEFICIOS DE LA REMOLACHA	6
2.1.5 ESTUDIOS SOBRE LA REMOLACHA Y BETALAINAS	6
2.2 BETALAÍNAS.....	7
2.2.1 FUENTES DE BETALAINAS PRESENTES EN LA NATURALEZA.....	7

2.2.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICA DE LAS BETALAÍNAS Y DERIVADOS	8
2.2.3 ESTABILIDAD DE LAS BETALAÍNAS	9
2.2.3 APLICACIONES DE LAS BETALAÍNAS.....	10
2.3 EXTRACCIÓN POR LIXIVIACIÓN SÓLIDO-LÍQUIDO	10
2.3.1 FACTORES QUE AFECTAN LA VELOCIDAD DE EXTRACCIÓN....	10
2.4 FILTRACIÓN	11
2.4.1 TIPO DE FILTRACIÓN UTILIZADA	11
2.5 ESPECTROFOTOMETRÍA	12
2.5.1 TRANSMITANCIA Y ABSORBANCIA	12
CAPÍTULO III.....	14
METODOLOGÍA	14
3.1.1 UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO	14
3.2 MATERIALES.....	16
3.2.1 MATERIALES, EQUIPOS Y SUSTANCIAS.....	16
3.3 METODOLOGÍA	17
3.3.1 CUANTIFICACIÓN DE BETALAÍNAS PRESENTES EN LAS HOJAS CRUDAS DE LA REMOLACHA (<i>BETA VULGARIS</i>)	17
3.3.2 DISEÑO EXPERIMENTAL.....	17
3.3.2.1 CARACTERÍSTICA DE LA UNIDAD EXPERIMENTAL	17
3.3.2.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	18
3.3.2.3 ANÁLISIS FUNCIONAL	18
3.3.3 FACTORES DE ESTUDIO	18

3.3.3.1 FACTOR A: TEMPERATURA	18
3.3.3.2 FACTOR B: SOLVENTE	19
3.3.3.3 TRATAMIENTOS	19
3.3.3.4 VARIABLE A EVALUARSE.....	20
3.3.4 EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN	20
3.3.5 EVALUAR LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE, CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS Y SENSORIALES BÁSICAS DE LAS BETALAINAS.	22
3.3.5.1 PRINCIPIO DEL MÉTODO DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	22
3.3.5.3 CARACTERIZACIÓN SENSORIAL.....	22
3.4 MÉTODO DE PROCESAMIENTO	24
3.4.1 DIAGRAMA DE PROCESO DE EXTRACCIÓN ADAPTADO A LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN	24
3.5 DETALLE DEL PROCESO	26
3.5.1 RECEPCIÓN DE MATERIA PRIMA	26
3.5.2 SELECCIÓN	26
3.5.3 LIMPIEZA.....	26
3.5.4 TROCEADO.....	27
3.5.5 EXTRACCIÓN.....	27
3.5.6 FILTRACIÓN.....	28
3.5.7 CUANTIFICACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE BETALAINAS ..	28
CAPÍTULO IV	30
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30

4.1.1 REALIZAR LA CUANTIFICACIÓN DE LAS BETALAÍNAS PRESENTES EN LAS HOJAS CRUDAS DE REMOLACHA <i>BETA VULGARIS</i>	30
4.2 DETERMINAR EL EFECTO DE LOS FACTORES TEMPERATURA Y RELACION DISOLVENTE/SOLUTO EN EL PROCESO DE EXTRACCIÓN DE BETALAÍNAS MEDIANTE LIXIVIACIÓN.	31
4.3 EVALUAR LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE, CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS Y SENSORIALES BÁSICAS DE LAS BETALAINAS	37
4.3.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS (PH)	37
4.3.2 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS (ANTIOXIDANTES)	39
4.3.2 EVALUACIÓN SENSORIAL BÁSICA DE LAS BETALAÍNAS	40
4.4 COSTOS DE EXTRACCIÓN.....	45
CAPÍTULO V	48
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	48
5.1 CONCLUSIONES.....	48
5.2 RECOMENDACIONES	49
BIBLIOGRAFÍA.....	50
ANEXOS	55

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 La remolacha Beta Vulgaris	4
Figura 3 Cultivo de la remolacha	6
Figura 4. Estructura química de las betaxantinas, betacianinas y betalaínas presentes en la remolacha.	7
Figura 5 Selección de hojas con características turgentes y sin senescencia.....	26
Figura 6 Limpieza de la materia prima con agua destilada.....	27
Figura 7 Troceado de las hojas con cortes de 0,5 cm con el fin tener mayor contacto interfacial con el solvente.	27
Figura 8 Extracción solido-líquido	28
Figura 9 Filtración de residuos y extracto.....	28
Figura 10 Diagrama de barras respecto al rendimiento de betalaínas disueltas en el extracto de hoja de remolacha.....	32
Figura 11 Superficie de respuesta correspondiente a la concentración de betalaína en el extracto de hoja de remolacha en función de la temperatura y la relación disolvente/soluto.	33
Figura 12 Diagrama de Pareto de efectos estandarizados de la temperatura y relación disolvente/soluto sobre el rendimiento de betalaína disuelta en el extracto de hoja de remolacha.	35
Figura 13 Grafica de interacción de los factores: temperatura (A) y la relación disolvente/soluto (B) sobre la concentración de betalaína disuelta en el extracto de la hoja de remolacha.....	35
Figura 14 Diagrama de barras de la prueba de significancia Tukey para la evaluación del pH de los tratamientos de extracción de betalaína.	38
Figura 15 Calificación de la aceptabilidad para el color del producto final (gomita)	40

Figura 16 Puntuación para el aroma del producto final (gomita)	42
Figura 17 Puntuación para el sabor del producto final (gomita).....	43
Figura 18 Puntuación para el sabor del producto final (gomita).....	44
Figura 19 Resultado del análisis fisicoquímico de la materia prima realizado en LASA laboratorios.....	56
Figura 20 Resultado del análisis de antioxidantes por el método FRAP.	60
Figura 21Tabla FRIEDMAN puntos críticos.....	63

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Clasificación taxonómica de la remolacha.....	4
Tabla 2 Betalaínas presentes en la naturaleza	7
Tabla 3 Ubicación del experimento en la universidad Técnica del Norte	14
Tabla 4 Localización del laboratorio privado Guijarro Lasa S.A.	14
Tabla 5 Análisis de varianza para el diseño	18
Tabla 6 Descripción de niveles del factor A	19
Tabla 7 Descripción de niveles del factor B	19
Tabla 8 Descripción y nomenclatura de los tratamientos	19
Tabla 9 Parámetros de evaluación en el análisis sensorial.....	23
Tabla 10 Análisis fisicoquímicos de la cuantificación de Betalaínas	30
Tabla 11 Pruebas de significancia de Tukey para los tratamientos de la variable tratamientos de extracción de betalaína.	34
Tabla 12 DMS para la variable temperatura en el extracto de hoja de remolacha.....	36
Tabla 13 DMS para la variable relación disolvente/soluto en el extracto hoja de remolacha.	36
Tabla 14 Evaluación del pH de los tratamientos de extracción de betalaína.	37
Tabla 15 Capacidad antioxidante por el método FRAP y expresado en miligramo Equivalente Ácido Ascórbico (mgEAA) de los tratamientos de extracción de betalaína.	39
Tabla 16 Resultado del cálculo en la variable color	40
Tabla 17 Resultado del cálculo en la variable Aroma.....	41
Tabla 18 Resultado del cálculo en la variable sabor	43
Tabla 19 Resultado del cálculo en la variable aceptabilidad	44

Tabla 20 Costos Variables de extracción	45
Tabla 21 Costos Fijos de extracción	46
Tabla 22 Rendimiento (mg/ml) de Betalaínas en función de la relación disolvente/soluto y la temperatura para la extracción de betalaína a partir de las hojas de remolacha de la repetición número uno.	57
Tabla 23 Rendimiento (mg/ml) de Betalaínas en función de la relación disolvente/soluto y la temperatura para la extracción de betalaína a partir de las hojas de remolacha de la repetición número dos.	58
Tabla 24 Rendimiento (mg/ml) de Betalaínas en función de la relación disolvente/soluto y la temperatura para la extracción de betalaína a partir de las hojas de remolacha.....	59

RESUMEN

Los pigmentos rojos se obtienen de fuentes naturales que son insuficientes y comúnmente se utiliza la betanina de la remolacha (*Beta vulgaris*). La hoja de remolacha (*Beta vulgaris*) es una fuente de betalaína las cuales podrían utilizarse como colorante en la industria de alimentos. Por lo general las betalaínas se obtienen por extracción con solvente (agua, etanol y metanol) y son inestables frente a factores ambientales (luz, oxígeno, temperatura y actividad acuosa) las cuales aceleran su degradación del color y capacidad antioxidante.

El objetivo principal de la presente investigación se centró en establecer las condiciones adecuadas de extracción de betalaínas a partir de las hojas de remolacha *Beta vulgaris*, mediante el proceso de extracción sólido-líquido. Para la cual se empleó un diseño completamente al azar con arreglo factorial AxB.

Se concluyó que los factores de extracción (temperatura y relación disolvente/soluto) tienen un efecto positivo en los resultados, obteniendo así un rendimiento del 45% con respecto al de la remolacha que se encuentra en un 95% de concentración de betalaína, siendo la relación disolvente/soluto (3:1) la más influyente.

Cabe mencionar que las betalaínas obtenidas de los mejores tratamientos fueron aplicadas en un dulce (gomita) y los resultados se obtuvo mediante la prueba discriminativa de comparaciones múltiples con un panel no entrenado de 30 personas, los cuales determinaron que el tratamiento T5 fue agradable al consumidor, tanto en el color, sabor, aroma y aceptabilidad con respecto al testigo E-162.

Palabras clave: Hoja de remolacha, pigmentos, betalaínas, extracción, lixiviación.

SUMMARY

Red pigments are obtained from natural sources which are insufficient and betanin from beet (*Beta vulgaris*) is commonly used. Beet leaf (*Beta vulgaris*) is a source of betalains which could be used as a colorant in the food industry. In general, betalains are obtained by solvent extraction (water, ethanol and methanol) and are unstable to environmental factors (light, oxygen, temperature and aqueous activity) which accelerate their color degradation and antioxidant capacity.

The main objective of the present investigation was to establish the adequate conditions for the extraction of betalains from *Beta vulgaris* beet leaves, by means of the solid-liquid extraction process. A completely randomized design with AxB factorial arrangement was used.

It was concluded that the extraction factors (temperature and solvent/solute ratio) have a positive effect on the results, thus obtaining a yield of 45% with respect to that of the beet at 95% betalain concentration, with the solvent/solute ratio (3:1) being the most influential.

It is worth mentioning that the betalains obtained from the best treatments were applied in a candy (gummy) and the results were obtained by means of the multiple comparisons discriminative test with an untrained panel of 30 people, which determined that the T5 treatment was pleasant to the consumer, both in color, flavor, aroma and acceptability with respect to the E-162 control.

Key words: Beet leaf, pigments, betalains, extraction, leaching.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 PROBLEMA

La provincia de Imbabura es una zona de producción agrícola y ganadera, donde se puede encontrar diversos cultivos transitorios como la remolacha cuya superficie sembrada es de 4,6 hectáreas y con un rendimiento productivo de 0,78 toneladas métricas por hectárea, de los cuales aproximadamente el 10% está considerado como un desperdicio orgánico, por lo tanto, los residuos que se obtienen por hectárea aproximadamente son de 78 kg entre hojas senescentes y frescas posteriores a la comercialización.

La comercialización de este tubérculo en los mercados municipales del cantón Ibarra genera una cantidad importante de residuos, la misma que se destina para alimentación animal o abono orgánico. Sin embargo, es una práctica ineficiente debido a que sus compuestos no se asimilan en su totalidad.

El creciente interés de los consumidores por los colorantes naturales en los alimentos, se debe por el reforzado beneficio que aporta a la salud del consumidor y por la preocupación sobre la seguridad que brindan muchos colorantes sintéticos, por esta razón es necesaria la innovación de productos buscando fuentes alternativas de colorantes naturales que brinden seguridad.

La remolacha contiene betalaínas, que en gran parte son desconocidas debido a su rareza natural, cuyo color varía desde el amarillo anaranjado hasta el rojo púrpura. En nuestro país, la remolacha es un producto disponible y se puede encontrar fácilmente en los mercados locales en cualquier época del año a un precio muy asequible.

1.2 JUSTIFICACIÓN

En Ecuador se cultivan tres variedades de remolacha: forrajera *Beta vulgaris* 'Mangelwurzel', azucarera *Beta vulgaris* var. *altissima* y roja variedad *Beta vulgaris*.

INEC (2016), indica que en la provincia de Imbabura se cultiva la remolacha variedad *Beta vulgaris* en suelos medios y ricos en humus, con una extensión aproximada de 4,6 hectáreas con un rendimiento de 0,78 TM, de los cuales aproximadamente el 10 % esta considerado como un residuo orgánico, por ello se plante la obtención de este compuesto bioactivo.

En la actualidad, las betalaínas son consideradas como una alternativa viable para la sustitución de colorantes sintéticos, que además proporcionan beneficios a la salud de sus consumidores, gracias a su capacidad antioxidante. Estas razones también han incrementado sus aplicaciones en otros ámbitos, como el cosmético o farmacológico

La principal función de los polifenoles y antocianinas en la remolacha es su capacidad antioxidante, estos cumplen un rol protector frente a los radicales libres, por ello la remolacha registra una actividad antioxidante variable, esta fluctúa entre $8,37 \pm 0,29\%$ a $21,83 \pm 0,35\%$, indicando así que estos valores se encuentran dentro de las dosis normales de ingesta de flavonoides por día (Fuentes, 2018).

El aporte que generará este proyecto, será el aprovechamiento de los residuos generados a partir de la comercialización de la remolacha, obteniendo un producto con características antioxidantes, el cual en un futuro pueda industrializarse y a la vez generar fuentes de empleo en el sector agroindustrial

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

- Extraer betalaínas a partir de las hojas de remolacha *Beta vulgaris* por lixiviación.

1.3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Realizar la cuantificación de betalaínas presentes en las hojas crudas de la remolacha *Beta vulgaris*.
- Determinar el efecto de los factores temperatura y relación disolvente/soluto en el proceso de extracción de betalaínas mediante lixiviación.
- Evaluar la capacidad antioxidante, características físico-químicas y sensoriales básicas de las betalaínas.

1.4 HIPÓTESIS

1.4.1 ALTERNATIVA

Ha: La temperatura y relación disolvente/soluto influyen en el proceso de extracción de betalaínas mediante lixiviación. ($>0,05$)

1.4.2 NULA

Ho: La temperatura y relación disolvente/soluto no influyen en el proceso de extracción de betalaínas mediante lixiviación.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 GENERALIDADES DE LA REMOLACHA *Beta vulgaris*

La remolacha (*Beta vulgaris L.*) es un vegetal cultivado en casi todo el mundo para el consumo en fresco como ensalada, por su contenido de azúcares, minerales y caroteno, sustancias de suma importancia para la vitalidad del organismo humano en general. Las hojas tienen gran valor nutritivo, mayor que el de las grandes y suculentas raíces; las que se emplean en la alimentación humana, como forrajes y para la extracción de azúcar según las características de las distintas variedades y especies (Casierra-Posada & Pinto-Correa, 2011).



Figura 1 La remolacha *Beta Vulgaris*

2.1.2 CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA DE LA REMOLACHA

La remolacha o betabel es la raíz profunda, grande y carnosa que crece en la planta del mismo nombre. Pertenece a la familia de las quenopodiáceas, que comprende unas 1,400 especies de plantas, casi todas herbáceas, propias de zonas costeras o de terrenos salinos templados. Dentro de esta familia se incluyen también otras verduras tan populares y nutritivas como las espinacas y las acelgas. Se trata de una raíz casi esférica de forma globosa (EFSA, 2010).

Tabla 1 Clasificación taxonómica de la remolacha

Reino	Plantae	Subclase	Caryophyllidae
Subreino	Tracheobionta	Orden	Caryophyllales
Súper división	Spermatophyta	Familia	Chenopodiaceae
División	Magnoliophyta	Género	<i>Beta L.</i>
Clase	Magnoliopsida	Especie	<i>Beta vulgaris L.</i>

Fuente. (Coello, 2019)

2.1.3 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

La remolacha es una planta bianual. Para completar su desarrollo reproductivo debe superar una etapa juvenil que tiene requerimientos de vernalización y de días largos para florecer. En el primer año produce una planta en roseta; durante este período se hipertrofia la parte superior de la raíz junto con elementos caulinares del hipocotilo y toma una forma o bien alargada o redonda de color rojizo o amarillento. La coloración varía en función de la proporción de betacianina: betaxantina. Si se hace un corte transversal del órgano hipertrofiado se puede observar una serie de capas concéntricas que pueden alternar el color rojo intenso con el rojo pálido; característica que desmerece la calidad culinaria. Las capas concéntricas corresponden a elementos de tejido vascular y a parénquima de reserva, donde se acumula principalmente azúcar. En el segundo año de cultivo, la planta emite un tallo floral que en su extremo aloja una inflorescencia compleja. La polinización es alógama y generalmente anemófila. El fruto es un glómulo que aloja de dos a tres semillas (Muñoz, 2003).



Figura 2 Cultivo de la remolacha

2.1.4 BENEFICIOS DE LA REMOLACHA

La betarraga a diferencia de otras hortalizas posee un amplio valor nutricional, en forma general está compuesta por 65,7% de agua; 4% a 8% de carbohidratos, 1,4% de proteínas, 0,4% de grasas, 1% de fibra soluble, compuestos bioactivos (polifenoles, antocianinas, antioxidantes) y sales de nitrato, además de minerales como, potasio (312 mg/100) g, fosforo (31 mg/100 g), calcio (11 mg/100 g). Sin embargo, la concentración de estos elementos no es homogénea debido a múltiples factores como variedad botánica, diferencia de cultivos, factores medioambientales, entre otros.

Actualmente la industria farmacológica está utilizando a la betarraga (*Beta vulgaris L.*) como agente quimioterapéutico en el tratamiento de tumores en el tracto digestivo, genital, pulmonar, hepático, uterino, mamario y prostático o como punto inicial para el desarrollo de diversas medicinas (Fuentes, Hector, 2018).

2.1.5 ESTUDIOS SOBRE LA REMOLACHA Y BETALAINAS

En el país mexicano se presentó el trabajo sobre el estudio de las propiedades ópticas no lineales de los fitocolorantes del betabel (*Beta vulgaris*) conocidos como Betalaínas. Las Betalaínas fueron extraídas en medio metanólico, y el extracto de Betalaínas fue purificado por cromatografía en columna y seguido por cromatografía en capa fina. Las Betaxantinas y Betacianinas obtenidas del extracto fueron caracterizadas por espectroscopía ultravioleta y los cambios en el índice de refracción no lineal fueron

estudiados mediante la técnica de barrido en Z utilizando un láser de He-Ne con una longitud de onda de 633nm y una potencia de 4 mW (Chiu, 2011).

2.2 BETALAÍNAS

Las betalaínas son los principales pigmentos de la raíz del betabel o remolacha (*Beta vulgaris* sp.) y de otras especies, como la espinaca malabar (*Basella* sp.), el amaranto (*Amaranthus* sp.), la pitaya (*Cereus*, *Hylocereus* y *Selenicereus* spp.) y la pera del cactus (*Opuntia* sp.) comúnmente conocida como tuna.

La raíz del betabel representa la principal fuente comercial de betalaínas concentrado o en polvo. Dichos compuestos tienen aplicación como colorantes naturales en la industria farmacéutica, cosmética y alimentaria. La betanina es el compuesto responsable del color rojo autorizado y clasificado como colorante natural de los alimentos (Flores, 2019).

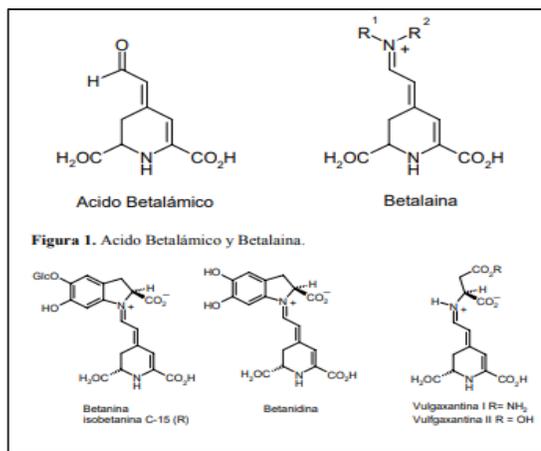


Figura 3. Estructura química de las betaxantinas, betacianinas y betalaínas presentes en la remolacha.

Nota. La figura representa la estructura de las betalaína que están constituidas por dos grupos de estructuras: las Betacianinas y las Betaxantinas. Tomado de “*Características de las propiedades ópticas de betacianinas y betaxantinas por espectroscopia Uv-Vis y barrido Z*” (p.113), por M. Ruiz, 2011, Scielo.org.mx.

2.2.1 FUENTES DE BETALAINAS PRESENTES EN LA NATURALEZA

Tabla 2 Betalaínas presentes en la naturaleza

N. científico / N común /parte de planta	Betalaina presentes
<i>Opuntia soeherensil brito / ayrampo / semilla</i>	Betanina, vulgaxantina
<i>Amaranthus caudatus / Kiwicha / inflirecencia</i>	Amarantina
<i>Beta vulgaris / betarraga / raíz</i>	Betanina, isobetanina, filocactina,
<i>Hylocerus polyrhuzus / pitaya / frutos</i>	Isoflocactina, bougainvilleina- I
<i>Myrtilocactus geometrizans / garambullo / frutos</i>	Betanina, isobetanina, vulgaxantina
<i>Bougainvillea glabra / bouganvillea / flores</i>	Bougainvilleina
<i>Opuntia ficus-indica / tuna / frutos</i>	Betanina, indicaxantina
<i>Iresine herbsti</i>	Iresinina-I

Fuente. (Maldonado, 2003)

En general, se reporta que en las *Amaranthaceae* predomina la amarantina; en las *Cactaceae*, la filocactina y betanina; en las *Chenopodiaceae*, la celosianina y amarantina; en las *Aizoaceae* (SubFamilia Lampranthinae), la lamprantina, entre otras.

2.2.2 CARACTERISTICAS FÍSICO QUÍMICA DE LAS BETALAÍNAS Y DERIVADOS

Las betalaínas, sobre todo en forma de extractos concentrados o liofilizados de raíz de remolacha roja, se utilizan en la industria alimentaria para modificar el color de una amplia variedad de productos, Corresponden a los aditivos denominados E-162. Los encontramos en yogures, cremas o helados, pero también en salchichas y jamones cocidos, pasando por galletas, dulces y zumos. Asimismo, se han desarrollado nuevos usos de los frutos comestibles del cactus *Opuntia ficus indica*, higo chumbo, sobre todo

porque evitan el sabor térreo que presentan los extractos de remolacha debido a la presencia de geosminas (compuestos que producen ciertos microorganismos del suelo).

2.2.3 ESTABILIDAD DE LAS BETALAÍNAS

Cuando un compuesto se utiliza a modo de colorante alimentario, la estabilidad de su color constituye uno de los principales factores para tener en cuenta.

En la estabilidad de las betalaínas de betarraga, en presencia de oxígeno se encuentra a pH 5,5-5,8, mientras que en condiciones anaeróbicas a pH 4,0-5,0.

- **Actividad de agua (aw):** Las betalaínas presentan mayor estabilidad en alimentos o sistemas modelo con un bajo contenido de humedad y aw, debido a que el agua está menos disponible para que ocurran reacciones químicas. Valores de aw por debajo de 0,63 mejoran la estabilidad de la betanina de betarraga (Delgado Vargas et al., 2000). Además, métodos para reducir la actividad acuosa (aw), como la concentración y el secado por atomización han demostrado proporcionar estabilidad a las betalaínas, en pigmentos provenientes de tuna púrpura (*Opuntia stricta*) (Castellar et al., 2006) y de amaranto (Cai y Corke, 2000).
- **Luz:** Existe una relación inversa entre la estabilidad de las betalaínas de betarraga y la exposición a la luz. La degradación de betalaínas sigue una cinética de primer orden que es oxígeno dependiente, ya que los efectos de la exposición a la luz son insignificantes bajo condiciones anaerobias (Attoe y von Elbe, 1981). Otros autores, observaron que la adición de 0,1% de ácido isoascórbico y 1% de ácido ascórbico a jugo de betarraga y pitahaya inhibió la degradación inducida por la luz durante el almacenamiento de betacianina (Bilyk et al., 1981; Herbach et al., 2006).
- **Oxígeno:** Según lo observado por Attoe y von Elbe (1985), en betalaínas de betarraga, estas reaccionan con el oxígeno molecular, causando el oscurecimiento del producto y la pérdida del pigmento. La estabilidad de la betanina disminuye linealmente con el aumento en la concentración de oxígeno (Czapski, (1990) siguiendo una cinética de primer orden en presencia de oxígeno, pero en ausencia

de oxígeno su comportamiento se desvía de este modelo. Se ha recomendado que para aumentar la estabilidad del pigmento es necesario colocar las muestras en atmósferas con bajas concentraciones de oxígeno, incorporando antioxidantes (Attoe y von Elbe, 1985; Han et al., 1998) o utilizando atmósferas con nitrógeno (Attoe y von Elbe, 1982 y 1985; Drunkler et al., 2006).

2.2.3 APLICACIONES DE LAS BETALAÍNAS

Las betalaínas están siendo consideradas como una alternativa viable a los colorantes sintéticos, ya que el uso de éstos está cada vez más cuestionado por los consumidores. Los pigmentos extraídos del betabel son actualmente los más utilizados en la industria alimentaria como colorantes naturales, para dar coloración rojiza, mientras que otras fuentes de betalaínas que pueden dar una coloración similar, son desaprovechadas. El objetivo de esta revisión es mostrar la importancia de las betalaínas y su presencia en algunos alimentos, así como la aplicación que tienen en la industria de alimentos (Tsia, 2018).

2.3 EXTRACCIÓN POR LIXIVIACIÓN SÓLIDO-LÍQUIDO

Lixiviación o extracción sólido-líquido, se utiliza para disolver materia soluble a partir de su mezcla con un sólido insoluble. Esta operación unitaria, una de las más antiguas en la industria química, ha recibido muchos nombres, según la técnica más o menos compleja utilizada para llevarla a cabo. El término extracción también se emplea por lo común para describir esta operación particular, aunque también se aplica a todas las operaciones de separación, que utilicen métodos de transferencia de masa o mecánicos (McCabe, 2007).

2.3.1 FACTORES QUE AFECTAN LA VELOCIDAD DE EXTRACCIÓN

- **TIPO DE SOLVENTE.** El disolvente seleccionado ofrecerá el mejor balance de varias características deseables: alto límite de saturación y selectividad respecto al soluto para extraer, capacidad para producir el material extraído con una calidad no alterada por el disolvente, estabilidad química en las condiciones del proceso, baja

viscosidad, baja presión del vapor, baja toxicidad e inflamabilidad, baja densidad, baja tensión superficial, facilidad y economía de recuperación de la corriente de extracto y costo.

- **TEMPERATURA** Se debe seleccionar de tal manera que se obtenga el mejor balance de solubilidad, presión del vapor del disolvente, difusividad del soluto, selectividad del disolvente y sensibilidad del producto (con respecto a materiales de construcción, por el ataque por corrosión o erosión). A temperaturas altas existe mayor solubilidad.
- **AGITACIÓN** La agitación es importante ya que esta sirve para establecer el contacto íntimo entre el sólido y el líquido y disolver a las materias solubles contenidas.
- **TAMAÑO DE LA PARTÍCULA** Si el tamaño es grande no puede entrar con facilidad el solvente, pero si es pequeño hasta formación en polvos finos, impedirá una buena separación, impidiendo a su vez una buena solubilidad (ya que si no existen los poros, o están muy comprimidos no puede entrar con facilidad el solvente (Vargas, 2017).

2.4 FILTRACIÓN

La filtración es una operación unitaria en la que el componente insoluble de una suspensión sólido-líquido se separa del líquido al hacerlos pasar por una membrana porosa (medio filtrante) que retiene las partículas sólidas, en una superficie, o dentro de una estructura, como los “marcos de un filtro prensa”; mediante la aplicación de una fuerza impulsora en un periodo de tiempo determinado. A los sólidos separados se les llama “torta”. En algunas ocasiones el líquido “el filtrado” constituye el producto deseado (Rogel, 2018).

2.4.1 TIPO DE FILTRACIÓN UTILIZADA

En la presente investigación se utilizó la filtración de torta (cake filtration) o comúnmente filtración, donde las partículas de sólido se acumulan sobre el filtro, esto debido a que el medio filtrante posee unos poros que no permiten pasar las partículas

de sólidos, formándose una torta. Se pretende separar el sólido del fluido, y en muchas ocasiones el alimento puede proceder de un sedimentador. Es el proceso de filtración por excelencia, donde la torta formada va creciendo, por lo tanto, hay que retirarla o eliminarla cada cierto tiempo (Martin, 2011).

2.5 ESPECTROFOTOMETRÍA

La espectrofotometría UV-visible es una técnica analítica que permite determinar la concentración de un compuesto en solución. Se basa en que las moléculas absorben las radiaciones electromagnéticas y a su vez que la cantidad de luz absorbida depende de forma lineal de la concentración. Para hacer este tipo de medidas se emplea un espectrofotómetro, en el que se puede seleccionar la longitud de onda de la luz que pasa por una solución y medir la cantidad de luz absorbida por la misma. En esta práctica se darán a conocer las características generales y conceptos relacionados con la espectrofotometría. A continuación, y tras la explicación del funcionamiento del espectrofotómetro se harán espectros de absorción con el fin de determinar la longitud de onda donde la muestra presenta la máxima absorción, y tras realizar las correspondientes rectas de calibrado se cuantificarán las concentraciones de distintas biomoléculas (Díaz, 2011).

2.5.1 TRANSMITANCIA Y ABSORBANCIA

Díaz (2011) menciona que cuando un rayo de luz de una determinada longitud de onda de intensidad I_0 incide perpendicularmente sobre una disolución de un compuesto químico que absorbe luz o cromóforo, el compuesto absorberá una parte de la radiación incidente (I_a) y dejará pasar el resto (I_t), de forma que se cumple:

$$I_0 = I_a + I_t$$

➤ Transmitancia

La transmitancia (T) de una sustancia en solución es la relación entre la cantidad de luz transmitida que llega al detector una vez que ha atravesado la muestra, I_t , y la cantidad de luz que incidió sobre ella, I_0 , y se representa normalmente en tanto

por ciento: $\% T = I_t/I_o \times 100$ La transmitancia nos da una medida física de la relación de intensidad incidente y transmitida al pasar por la muestra. La relación entre %T y la concentración no es lineal, pero asume una relación logarítmica inversa.

➤ **Absorbancia**

La absorbancia (A) es un concepto más relacionado con la muestra puesto que nos indica la cantidad de luz absorbida por la misma, y se define como el logaritmo de $1/T$, en consecuencia: $A = \log 1/T = -\log T = -\log I_t/ I_o$. Cuando la intensidad incidente y transmitida son iguales ($I_o = I_t$), la transmitancia es del 100% e indica que la muestra no absorbe a una determinada longitud de onda, y entonces A vale $\log 1 = 0$.

CAPÍTULO III

METODOLGÍA

3.1.1 UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO

La presente investigación se realizó en la provincia de Imbabura, cantón Ibarra. El desarrollo de pruebas preliminares y la fase experimental se efectuó en el laboratorio de Análisis Experimental e Innovación de la Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales (FICAYA) de la Universidad Técnica del Norte (UTN). La tabla 3, indica las características del lugar de acuerdo con el departamento de meteorología de la ciudad de Ibarra.

Tabla 3 Ubicación del experimento en la universidad Técnica del Norte

Localización	Descripción
Provincia	Imbabura
Cantón:	Ibarra
Ciudad:	Ibarra
Lugar:	Laboratorios de Análisis Físico-Químico y Microbiológico
Altitud:	2250 m.s.n.m
HR. Promedio:	73%
Temperatura:	17,4°C
Pluviosidad:	503 – 1000 mm. Año

Fuente. - (INAMHI, 2019)

Tabla 4 Localización del laboratorio privado Gujarro Lasa S.A.

Localización	Descripción
Provincia	Pichincha
Cantón:	Quito
Ciudad:	Quito
Altitud:	2.850 m.s.n.m
Longitud	-78.5248 0° 13' 31" Sur, 78° 31' 29" Oeste
HR. Promedio:	69.56%
Temperatura media:	20°C
Precipitación:	2877 mm. Año

Se recurrió a los servicios de este laboratorio privado debido a las restricciones ocasionadas por el Covid-19. El laboratorio Guijarro Lasa S.A., se ubica en la ciudad de Quito, en la calle Juan Ignacio Pareja Oe5-97 y Simón Cárdenas.

3.2 MATERIALES

En la presente investigación se utilizó los siguientes materiales, equipos y sustancias:

3.2.1 MATERIALES, EQUIPOS Y SUSTANCIAS

3.2.1.1 MATERIALES

- Vasos de precipitación de 100 ml A= [± 10 ml]
- Erlenmeyer de 250 ml A= [± 50 ml]
- Probeta de 250 ml A= [± 2 ml]
- Probeta de 25 ml A= [± 2 ml]
- Pipeta. de 10 ml A= [± 0.01 ml]
- Embudos de decantación 200 ml
- Agitadores
- Matraz aforado 250 ml
- Papel Whatman Núm. 4
- Tubos para centrifuga 50 ml
- Membrana de 0,22 μm
- Mangueras

3.2.1.2 EQUIPOS

- Balanza analítica A= [± 0.1 g]
- Termómetro digital A= [± 0,1 °C]
- Baño térmico SHAKER
- Medidor de pH (potenciómetro)
- Espectrofotómetro Uv-Visible
- Centrifuga
- Alcoholímetro
- Calorímetro estándar
- Cocineta

3.2.1.3 SUSTANCIAS

- Etanol C₂H₅OH 80%.
- Agua destilada
- Solución buffer McIlvaine (pH 6,5, citrato-fosfato)
- Solución FRAC
- Buffer ácido-acetato de sodio (pH 3,6)
- TPTZ
- Sulfato ferroso

3.3 METODOLOGÍA

3.3.1 CUANTIFICACIÓN DE BETALAÍNAS PRESENTES EN LAS HOJAS CRUDAS DE LA REMOLACHA (*Beta vulgaris*)

Según Cevallos (2018), las técnicas de identificación y cuantificación recomendadas para el análisis de principios activos son: espectrofotometría Uv-Vis, cromatografía líquida de alta resolución con detector de arreglo de diodos y espectrómetro de masas (HPLC-DAD-MS) para polifenoles y betalaínas.

Las muestras fueron tomadas y transportadas al laboratorio privado Guijarro Lasa S.A. siguiendo los estándares para evitar deterioro y contaminación.

3.3.2 DISEÑO EXPERIMENTAL

La investigación utilizó un diseño Completamente al Azar con arreglo factorial A x B en el que (A) corresponde a Temperatura de extracción y (B) Relación disolvente/soluto.

3.3.2.1 Característica de la unidad Experimental

La unidad experimental consta de una masa fija de 5 gramos de las hojas de remolacha para cada tratamiento.

3.3.2.2 Análisis estadístico

En la siguiente tabla se describe la estructura que se utilizó para interpretar los datos en la variable betalaína cuantificada.

Tabla 5 Análisis de varianza para el diseño

FUENTES DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD
Total	17
Tratamientos	8
Factor A	1
Factor B	1
Interacciones AxB	1
Error Experimental	9

3.3.2.3 Análisis funcional

Se aplicó las pruebas de significancia de Tukey al 5% a los tratamientos que presentaron significancia.

3.3.3 FACTORES DE ESTUDIO

Se tomó como fuente de estudio lo siguiente:

3.3.3.1 Factor A: Temperatura

Se estudió el efecto de aplicar tres niveles de temperaturas de; 14, 17 y 20 grados Celsius en el proceso de la extracción de acuerdo con las condiciones medio ambientales de la ciudad de Ibarra, estas son las siguientes.

Tabla 6 Descripción de niveles del factor A

Factor A	Niveles
A1	14 °C
A2	17°C
A3	20°C

3.3.3.2 Factor B: Solvente

Para el factor B que es la relación solvente- soluto se tomó en cuenta una concentración de etanol al 80 por ciento de pureza, las relaciones son las siguientes.

Tabla 7 Descripción de niveles del factor B

Factor B	Niveles
B1	20 ml etanol/ 5 g de hoja
B2	15 ml etanol/ 5 g de hoja
B3	10 ml etanol/ 5 g de hoja

3.3.3.3 Tratamientos

Tabla 8 Descripción y nomenclatura de los tratamientos

Tratamiento	Combinaciones	Descripción
T1	A1B1	14 °C, 20 ml etanol / 5 g

T2	A1B4	14 °C, 15 ml etanol/ 5 g
T3	A1B3	14 °C 10 ml etanol / 5 g
T4	A2B1	17 °C 20 ml etanol / 5 g
T5	A2B2	17 °C 15 ml etanol / 5 g
T6	A2B3	17 °C 10 ml etanol / 5 g
T7	A3B1	20 °C 20 ml etanol / 5 g
T8	A3B2	20 °C 15 ml etanol / 5 g
T9	A3B3	20 °C 10 ml etanol / 5 g

3.3.3.4 Variable a evaluarse

Variable cuantitativa

La variable cuantitativa para esta investigación es la cuantificación de las betalaínas presentes en las hojas de la remolacha, estos compuestos bio-activos son considerados como pigmentos o colorantes vegetales, por lo que para su cuantificación se utilizó la espectrofotometría UV-VIS con una longitud de onda de 535 nm para betaninas y 483 nm para betaxantinas.

3.3.4 EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN

➤ Extracción

Para la extracción se tomó la metodología descrita por Fernández (2017), con modificaciones. Se pesaron 5 gramos de muestra fresca, se homogenizó y extrajo a temperaturas de 14, 17 y 20 °C con la relación solvente-soluto de 20, 10 y 15 ml de etanol al 80% usando un mortero. Se filtró con papel Whatman Núm. 4 para obtener un residuo R y extracto E. Los extractos se centrifugaron a 10.000 rpm durante 20 minutos y el sobrenadante se almaceno a una temperatura de 4 °C en frascos color ámbar hasta la determinación de betacianinas, betaxantinas y la actividad antioxidante.

➤ **Cuantificación de betalaínas**

Se cuantificó por espectrofotometría de acuerdo con el método descrito por Stintzing et al. (2005) y Castellanos (2008).

Se pesó 5 g de muestra del sobrenadante de las hojas de remolacha y se aforó con agua destilada, posteriormente se sometió a centrifugación durante 5 minutos a 5000 rpm en una centrifuga, el sobrenadante obtenido se filtró a través de una membrana de 0,22 μm , se tomó una alícuota de 1 ml que se aforó en un matraz de 10 ml con la solución buffer McIlvaine pH 6,5. Junto con espectrofotometría se construyó la curva patrón con lecturas estándar de 535 nm para betaninas y 483 nm para betaxantinas.

El contenido de betalaínas se cuantifico de acuerdo a la siguiente formula descrita por Stintzing et al. (2002).

$$\textit{Contenido total betalaínas} \frac{\textit{mg}}{\textit{g}} = A * DF * MW * \frac{1000}{\epsilon L} \quad (1)$$

Donde:

A: Absorbancia

DF: Factor de dilución

MW: Peso molecular

ϵ : Coeficiente de extinción molar

L: Longitud de celda

Para la cuantificación de betaninas y betaxantinas, el peso molecular (MW) y el coeficiente de extinción molar son (ϵ) (MW= 550 g/mol, ϵ = 60000L/mol H₂O y MW= 308 g/mol, ϵ = 48000 L/mol H₂O respectivamente). El contenido de betaninas y betaxantinas son expresados en miligramos de betalaína por cada 100 ml de jugo de remolacha (mg BE/100 ml)

3.3.5 EVALUAR LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE, CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS Y SENSORIALES BÁSICAS DE LAS BETALAINAS.

El análisis de varianza arrojó que los mejores tratamientos T5, T8, T7 y T4, por lo que se procedió a evaluar la capacidad antioxidante, características fisicoquímicas y sensoriales a estos, usando el tratamiento T9 como control.

3.3.5.1 Principio del método de capacidad antioxidante

El método FRAP se fundamenta en la reducción de hierro férrico (Fe^{+3}) presente en el reactivo FRAP hasta la forma ferrosa (Fe^{+2}) por presencia de antioxidantes.

- **Reactivo FRAP:** buffer ácido acético-acetato de sodio (pH 3,6), TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina) y FeCl_3 .

Se genera una coloración azul, a la capacidad reductora de la muestra (se forma un complejo ferroso-TPTZ) que puede cuantificarse por colorimetría (593 nm) en base a un patrón de sulfato ferroso.

- **Preparación de la solución FRAP.** - Está compuesta por 25 ml de solución buffer ácido acético-acetato de sodio (pH 3,6), 2,5 ml de solución 10 (mM) TPTZ diluida con HCl 40 (mM) y solución 20 (mM) FeCl_3 .
- **Preparación de las muestras:** Se utilizó 900 μL de solución FRAP, 30 μL de muestra y 120 μL de agua destilada.
- **Espectrofotómetro.** - Se determinó la absorbancia a una longitud de onda de 593nm en un lector multi-modal Cytation 3, marca BioTek.

Para cada lectura se tomó en cuenta la lectura de la absorbancia de la muestra testigo. La absorbancia final de las muestras se comparará con la curva estándar de Trolox (100-1000 $\mu\text{mol/L}$) disueltos en etanol al 96%.

3.3.5.3 Caracterización Sensorial

Según Celis (2019), el análisis sensorial es el conjunto de herramientas que nos permiten evocar, medir, analizar e interpretar las reacciones a aquellas características

de alimentos y otras sustancias que son percibidas por los sentidos. La evaluación sensorial ayuda a traducir los deseos, gustos, preferencias y expectativas de un consumidor en propiedades concretas y bien definidas.

Se usó la prueba discriminativa, la cual nos permite saber la diferencia entre dos muestras y la magnitud e importancia de las diferencias, esta prueba analítica se realizó con un panel de 30 jueces no entrenados que compararon 5 muestras con presencia de betalaínas frente a un testigo (E162).

Tabla 9 Parámetros de evaluación en el análisis sensorial

Conceptualización	Categoría	Indicador	Ítems básicos	Técnicas de recolección de información
El colorante natural (betalaínas) puede ser aplicable en todo tipo de productos alimenticios para dar una mejor presentación al alimento.	Calidad	Pruebas sensoriales	<p>¿Es identificado como un colorante natural?</p> <p>¿El color que presenta es característico al testigo (E162)?</p> <p>¿Se mantiene el sabor original?</p>	<p>Color</p> <p>Sabor</p> <p>Olor</p> <p>Aceptabilidad</p>

			¿Es consumible?	
--	--	--	-----------------	--

3.4 MÉTODO DE PROCESAMIENTO

El experimento consistió de varios procedimientos secuenciales, los cuales se encuentran especificados en el diagrama de extracción de betalaínas de las hojas de remolacha.

3.4.1 DIAGRAMA DE PROCESO DE EXTRACCIÓN ADAPTADO A LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN

En la figura se observa el proceso de extracción de betalaínas-

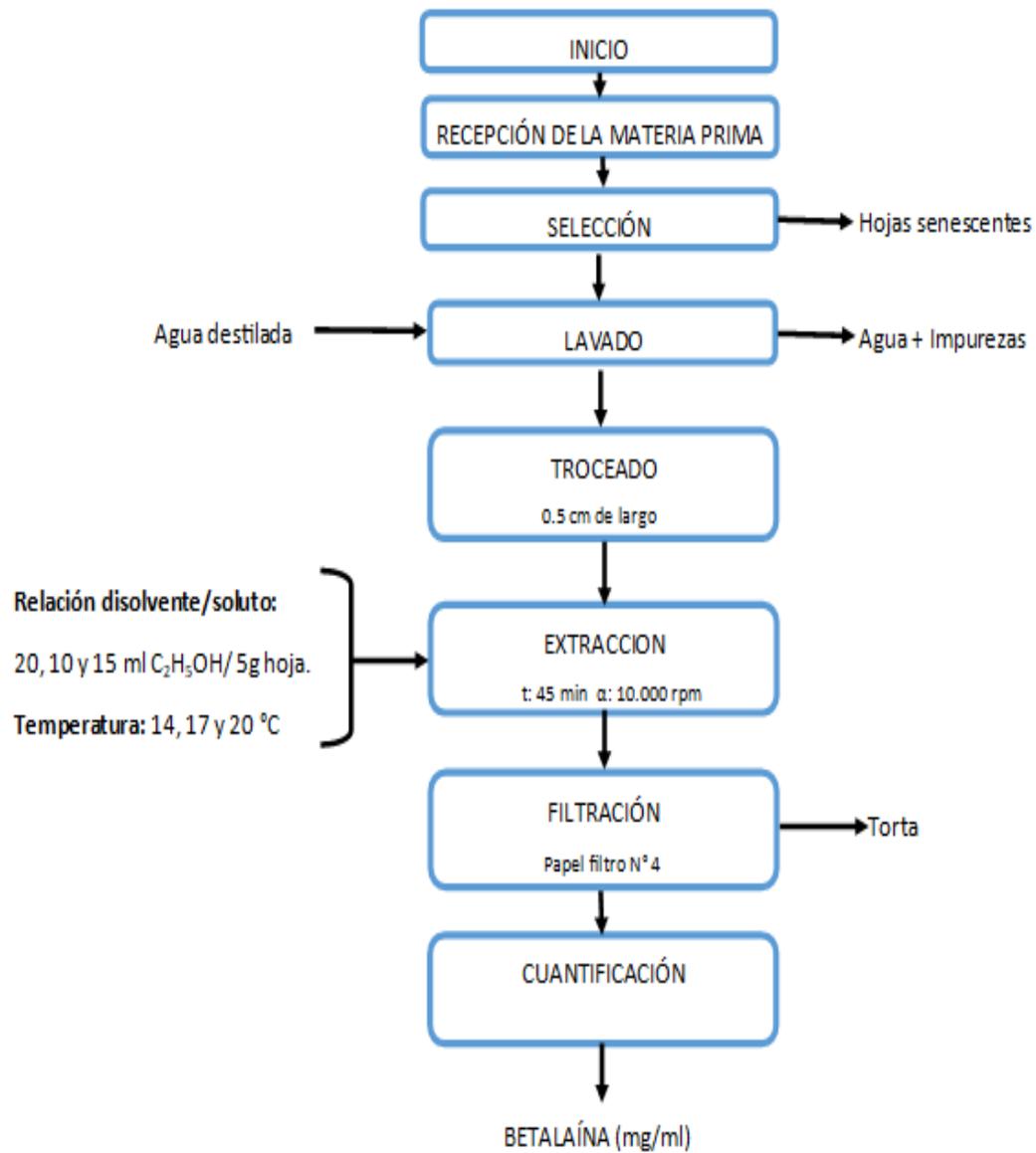


Figura 1 Diagrama de proceso de extracción y determinación de betalinas

3.5 DETALLE DEL PROCESO

Para la extracción de betalaínas presente en los residuos de remolacha, se realizó los siguientes procesos:

3.5.1 RECEPCIÓN DE MATERIA PRIMA

Las hojas de remolacha utilizadas como materia prima en esta investigación se los obtuvo en el mercado municipal de la ciudad de Ibarra.

3.5.2 SELECCIÓN

Las hojas fueron seleccionadas por características visuales es decir presencia de senescencia.



Figura 4 Selección de hojas con características turgentes y sin senescencia

3.5.3 LIMPIEZA

Las hojas de la remolacha se lavaron con agua destilada cuidadosamente para eliminar restos de tierra e impurezas.



Figura 5 Limpieza de la materia prima con agua destilada.

3.5.4 TROCEADO

Se realizó cortes de 0,5 cm con el fin de reducir el tamaño de las hojas para que tenga mayor contacto interfacial.



Figura 6 Troceado de las hojas con cortes de 0,5 cm con el fin tener mayor contacto interfacial con el solvente.

3.5.5 EXTRACCIÓN

Para la extracción se tomó la metodología descrita por (Fernandez, 2017), con modificaciones, Se pesó 5 gramos de muestra fresca, se homogenizo y extrajo a temperaturas de 14, 17 y 20 °C con la relación solvente-soluto de 20, 10 y 15 ml de etanol al 80% usando un mortero. Se filtrará con papel whatman Núm. 4 para obtener un residuo R y extracto E. Los extractos se centrifugaron a 10.000 rpm durante 20 minutos y el sobrenadante se almaceno a una temperatura de 4 °C en frascos color

ámbar hasta ser utilizados en la determinación de betacianinas, betaxantinas y la actividad antioxidante

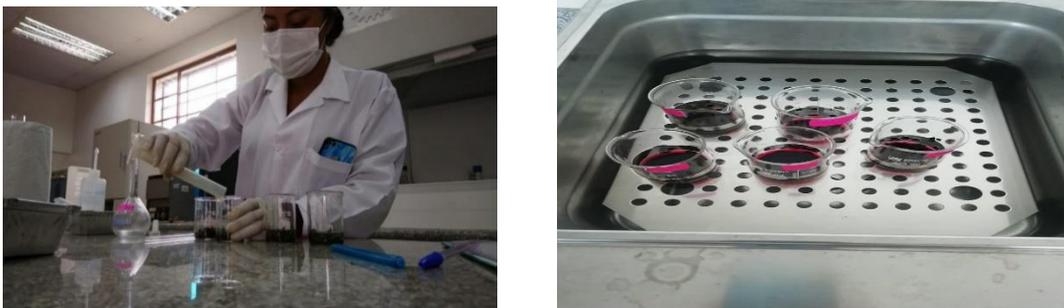


Figura 7 Extracción solido-líquido

3.5.6 FILTRACIÓN

Se filtró con papel Whatman Núm. 4 para obtener un residuo R y extracto E.



Figura 8 Filtración de residuos y extracto.

3.5.7 CUANTIFICACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE BETALAINAS

Se cuantificó por espectrofotometría de acuerdo con el método descrito por Stintzing et al. (2005) y Castellanos (2008), López (2013).

Se pesó 5 g de muestra del sobrenadante de las hojas de remolacha y se aforó con agua destilada en un matraz de aforo de 25 ml, posteriormente se sometió a centrifugación durante 5 minutos a 5000 rpm en una centrifuga, el sobrenadante obtenido se filtró a

través de una membrana de 0,22 μm , se tomó una alícuota de 1 ml que se afora en un matraz de 10 ml con la solución buffer McIlvaine pH 6,5. Junto con espectrofotometría se construyó la curva patrón con lecturas estándar de 535 nm para betacianinas y 483 nm para betaxantinas.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1.1 REALIZAR LA CUANTIFICACIÓN DE LAS BETALAÍNAS PRESENTES EN LAS HOJAS CRUDAS DE REMOLACHA *Beta vulgaris*.

Para los análisis fisicoquímicos y cuantificación de las betalaínas se utilizó hojas de remolacha con características intactas y se envió al Laboratorio Guijarro Lasa S.A., ubicado en la ciudad de Quito. Como muestra en la tabla 10.

Tabla 10 Análisis fisicoquímicos de la cuantificación de Betalaínas

Parámetro Analizado	Unidad	Resultados	Método de ensayo
Ceniza	%	2,4	AOAC 945.38
Humedad	%	89,92	AOAC 931.04
pH	pH	6,68	NTE INEN 526
Betalaínas	mg/g	0,5526	Espectrofotometría Uv.Vis

De acuerdo a los resultados, el pH de 6,68 se encuentra dentro del intervalo de valores que menciona Robles (2018), en su investigación en el cual indica un rango de pH 3,0 a 7,0, lo cual resulta particularmente adecuado para una buena estabilidad y para su aplicación en una amplia gama de productos alimenticios de baja acidez y neutros

La cuantificación de betalaínas mostró un resultado de 0,5526 mg de betalaína por cada 100 gramos de la hoja de remolacha, a diferencia de los datos reportados por Takács (2022), indica que la cantidad máxima de extracción de betalaínas es de 2,80 mg/g presentes en la hoja de remolacha siendo un valor superior al reportado por esta investigación, esto se debería al estado de madurez en el que se encuentra la materia

prima, pues el mismo autor menciona que en un periodo de 85 días de madurez las hojas presentan un mayor contenido de compuestos bioactivos.

Cabe mencionar que en esta investigación el estado de madurez y cosecha fueron a los 105 días lo cual comprobaría la disminución de compuestos bioactivos por aumento de senescencia en esta investigación a diferencia de lo que menciona Takács (2022).

4.2 DETERMINAR EL EFECTO DE LOS FACTORES TEMPERATURA Y RELACION DISOLVENTE/SOLUTO EN EL PROCESO DE EXTRACCIÓN DE BETALAÍNAS MEDIANTE LIXIVIACIÓN.

En la figura 10, se presentan los rendimientos obtenidos en función de los factores temperatura y relación disolvente/soluto para el extracto de betalaínas obtenidos a partir de las hojas de remolacha variedad *Beta vulgaris*.

En el anexo 3, tabla 24, se aprecia las condiciones con las que se trabajó en esta investigación, donde se relacionaron dos variables dependientes a tres niveles de temperatura; 14, 17 y 20°C, y tres niveles de relación disolvente/soluto; 20, 15, 10 ml Etanol/ 5g de hoja, para un tiempo de centrifugación de 20 minutos y 10.000 rpm respectivamente.

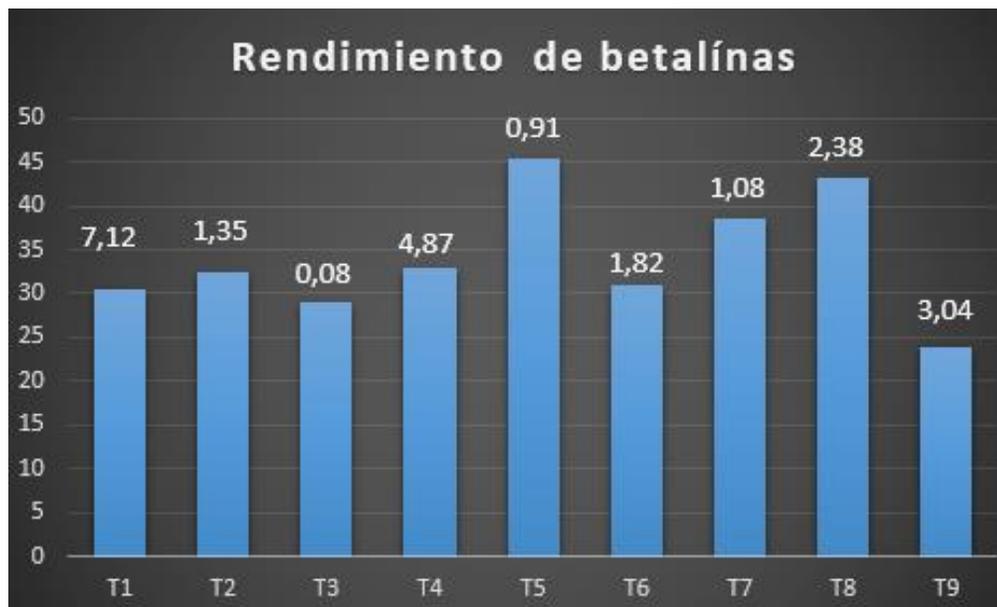


Figura 9 Diagrama de barras respecto al rendimiento de betalinas disueltas en el extracto de hoja de remolacha.

En la figura 10 se observa que las variables actuaron conjuntamente en el proceso de extracción, llegando a obtener un valor máximo de 45,43 mg de betalaína por cada 100 ml, siendo un valor superior al reportado por Cazorla (2018), en su estudio de aplicación de la técnica de micro encapsulación de betalaínas extraídas a partir de la remolacha donde se obtuvo 8,40 mg de betalaína por cada 100 ml, cabe mencionar que Yu Fu (2020) corrobora los resultados en su investigación donde se aplicó el solvente etanol diluido en agua y la extracción en un tiempo de 43 minutos donde se obtuvo 31,03% , 45,01% y 35,34% de betacianinas, betaxantinas y en total betalaína respectivamente.

La diferencia entre los resultados obtenidos por Cazorla (2018) y esta investigación, se debería a las condiciones ambientales y factores de extracción (10 por ciento más de etanol y 23 a 48 horas de extracción con respecto al tiempo).

La dependencia de la concentración de betalaínas con respecto a la temperatura y relación disolvente/soluto, se puede apreciar de mejor manera mediante la gráfica de superficie de respuesta para el extracto de hoja de remolacha en la figura 11.

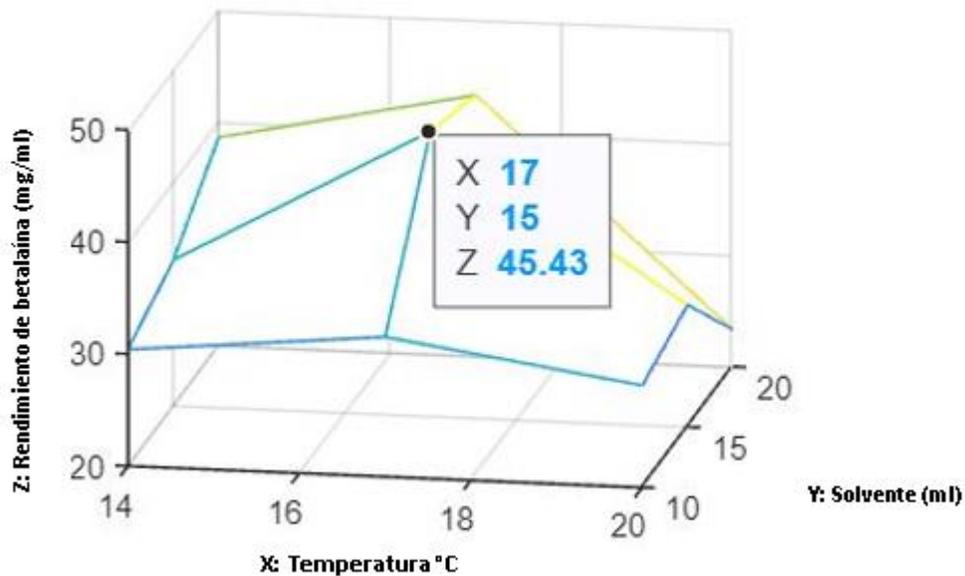


Figura 10 Superficie de respuesta correspondiente a la concentración de betalaina en el extracto de hoja de remolacha en función de la temperatura y la relación disolvente/soluto.

En la figura 11, se aprecia el diagrama de superficie de respuesta donde se observa que los picos de color azul representan a los tratamientos T5 y T8 que revelan los mejores rendimientos, por lo tanto la interacción entre solvente/soluto en las condiciones de temperatura y volumen, se encuentran dentro de los parámetros establecidos donde T5 (17 °C y 15 ml C₂H₅OH/5g) y T8 (20°C y 15ml C₂H₅OH/5g) son las condición más adecuadas para una mayor extracción de betalaina en las hojas de remolacha.

Tabla 11 Pruebas de significancia de Tukey para los tratamientos de la variable tratamientos de extracción de betalaína.

Tratamiento	Media	Grupos
T5	45,430	a
T8	43,285	a b
T7	38,570	a b c
T4	32,990	a b c d
T2	32,455	b c d
T6	30,900	b c d
T1	30,395	b c d
T3	29,080	c d
T9	23,915	d

En la prueba de significancia Tukey Tabla 11 se puede apreciar que T5, T8, T7 y T4 estadísticamente no tienen diferencia significativa, sin embargo, T8 y T7 tampoco lo tienen, pero T9 es diferente a todos estadísticamente respecto a la variable de extracción.

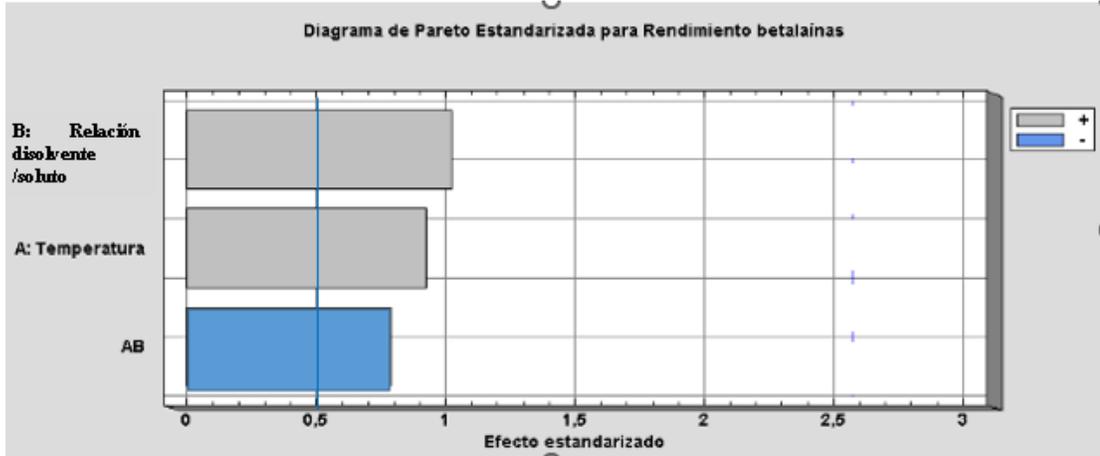


Figura 11 Diagrama de Pareto de efectos estandarizados de la temperatura y relación disolvente/soluto sobre el rendimiento de betalaína disuelta en el extracto de hoja de remolacha.

En la figura 12, se presenta el diagrama de Pareto de efectos estandarizados en el cual se observa que el efecto producido por la relación disolvente/soluto es mayor que el efecto producido por la temperatura, el cual afirma que el efecto de mayor relevancia es la relación disolvente/soluto.

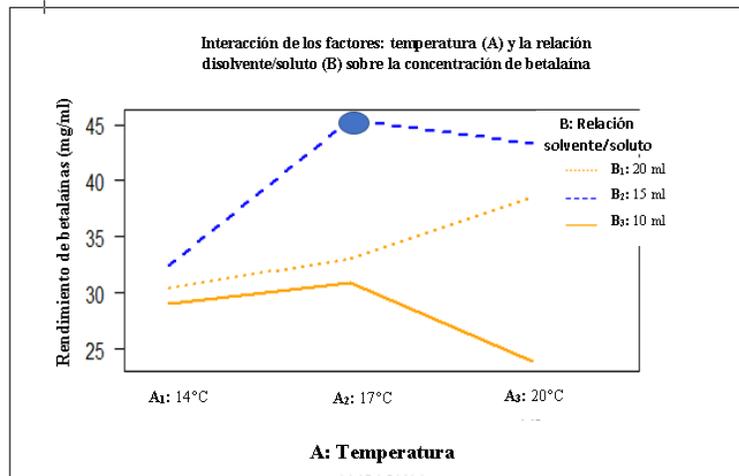


Figura 12 Grafica de interacción de los factores: temperatura (A) y la relación disolvente/soluto (B) sobre la concentración de betalaína disuelta en el extracto de la hoja de remolacha

Según los resultados obtenidos del análisis estadístico de la figura 13, se logra evidenciar que el efecto más importante es la relación disolvente/soluto, ya que existe un aumento considerable en la concentración de betalaínas en el proceso de extracción con respecto a la variable B2 que indica el volumen del disolvente de 15 ml de etanol por cada 5 gramos de hoja de remolacha, seguido de la variable temperatura.

Esto se debe a las condiciones de extracción ya que estas influyen en la estabilidad de las betalaínas acelerando la oxidación por aumento de pH, actividad acuosa (Aw) y actividad enzimática como lo menciona Mardujano (2006) en su estudio preliminar de los pigmentos presentes de la pitahaya (*Stenocereous stellatus*) de la región Mixteca.

Tabla 12 DMS para la variable temperatura en el extracto de hoja de remolacha

Factor A	Media	Rangos
a2	36,44	a
a3	25,26	a b
a1	30,64	b

Al realizar la prueba de significancia de Diferencia Mínima Significativa (DMS) para el factor A (temperatura de extracción) tabla 12, se determinó que existe una diferencia significativa para los grados de temperatura sobre la relación disolvente/soluto, de manera que a2 (17°C) es el mejor nivel, siendo esta la temperatura ideal para obtener una mejor extracción y mayor concentración de betalaína.

Tabla 13 DMS para la variable relación disolvente/soluto en el extracto hoja de remolacha.

Factor B	Media	Rangos
b2	40,39	a
b3	33,99	b

b1	27,97	c
-----------	-------	---

Al realizar la prueba de significación de Diferencia Mínima Significativa (DMS) para el factor B (relación disolvente/soluto) tabla 13, se determinó que existe diferencia mínima significativa para los grados de temperatura sobre la relación disolvente/soluto, de manera que b2 (15 ml C₂H₅OH/5g de hoja de remolacha), es el mejor nivel, siendo la relación (3:1) la ideal para obtener la mayor concentración de betalaína en el extracto de hoja de remolacha.

4.3 EVALUAR LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE, CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS Y SENSORIALES BÁSICAS DE LAS BETALAINAS

4.3.1 Características físicas (pH)

En la figura 14 se puede apreciar los resultados obtenidos en la escala del pH donde se observa que estadísticamente no tienen diferencia significativa entre todos los tratamientos, por ello García (2011) menciona que las betalaína permanecen estables a temperaturas inferiores a 25°C y Vallejo (2021) menciona que el color permanece inalterado en un intervalo de pH de 3 a 7; por debajo del pH 3.0 el color cambia a violeta, y su intensidad decrece. Arriba del pH 7.0, el color es más azulado debido a un efecto betocrómico. La mayor intensidad de azul se observa a un pH 9.0.

Tabla 14 Evaluación del pH de los tratamientos de extracción de betalaína.

HOJA DE REMOLACHA		TRATAMIENTO	MEDIA	DESVIACIÓN ESTANDAR
Temperatura	Relación S-			
(°C)	L			
	(ml)	T1	7,285	0,261
14	20	T2	7,170	0,028
	15			

	10	T3	7,245	0,445
	20	T4	6,985	0,177
17	15	T5	6,590	0,000
	10	T6	6,815	0,035
	20	T7	7,035	0,275
20	15	T8	6,850	0,042
	10	T9	6,880	0,028

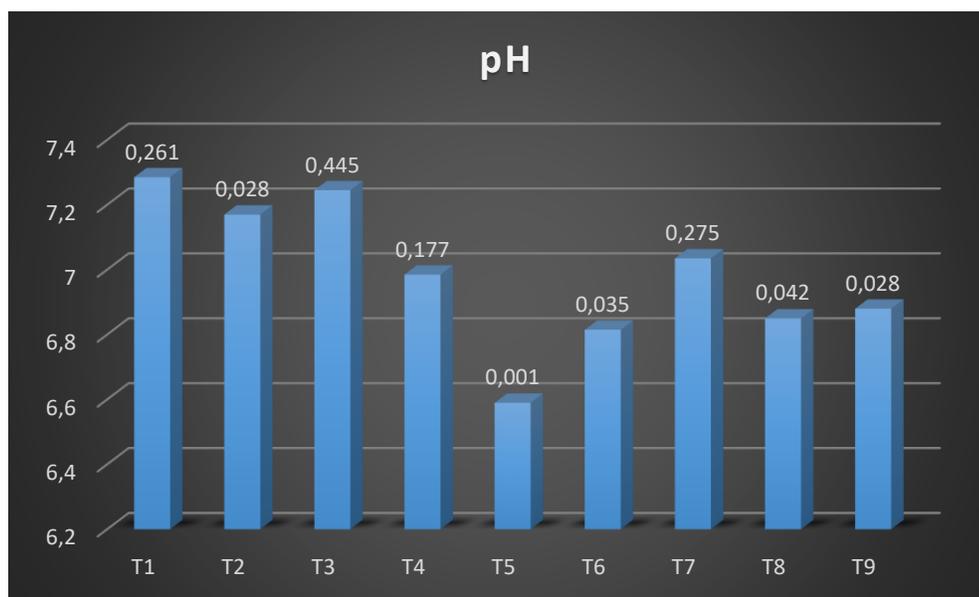


Figura 13 Diagrama de barras de la prueba de significancia Tukey para la evaluación del pH de los tratamientos de extracción de betalaína.

Badui (2006), menciona que las betalaínas son muy sensibles a la temperatura. La degradación de betalaínas como betanina y vulgaxantina-I sigue una reacción de primer

orden en un intervalo de pH 3.0 a 7.0, en ausencia de oxígeno. La betanina, por otra parte, produce isobetanina y/o betanina descarboxilada cuando se calienta a un pH de 3,0 a 4,0.

4.3.2 Características químicas (Antioxidantes)

Tabla 15 Capacidad antioxidante por el método FRAP y expresado en miligramo Equivalente Ácido Ascórbico (mgEAA) de los tratamientos de extracción de betalaína.

Tratamiento	Condiciones	Unidades (mgEAA/L)
T9	20 °C; 10 ml etanol	1025
T7	20 °C; 20 ml etanol	722
T8	20 °C; 15 ml etanol	714
T4	17 °C; 20 ml etanol	497
T5	17 °C; 15 ml etanol	375

Se evidenció que los extractos con mayor capacidad antioxidante (Tabla 15) fueron los obtenidos a la temperatura de 20 °C, alcanzando una actividad mayor de 1025 mgEAA/L. Mientras el extracto que registró la menor actividad antioxidante (375 mgEAA/L) fue el obtenido usando como disolvente la mezcla de 15 ml de etanol a una temperatura de 17°C.

Restrepo (2019), indica que al evaluar el efecto de la temperatura de extracción con el solvente etanol: agua en proporciones (70:30) con temperaturas de 20 a 50°C presentaron un aumento en la capacidad antioxidante con valores de 86(μmol Trolox/g muestra B.H.) hasta 147 (μmol Trolox/g muestra B.H.) respectivamente.

4.3.2 Evaluación sensorial básica de las betalaínas

Para la evaluación sensorial, se utilizó una escala hedónica de 5 niveles y se elaboraron dulces tipo gomitas con un 1% del extracto de betalaína.

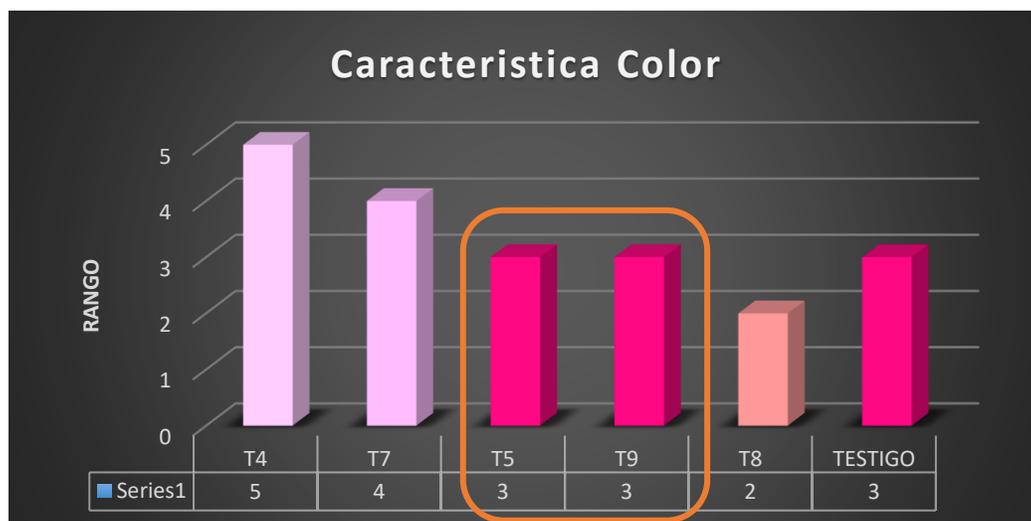
4.3.2.1 Color

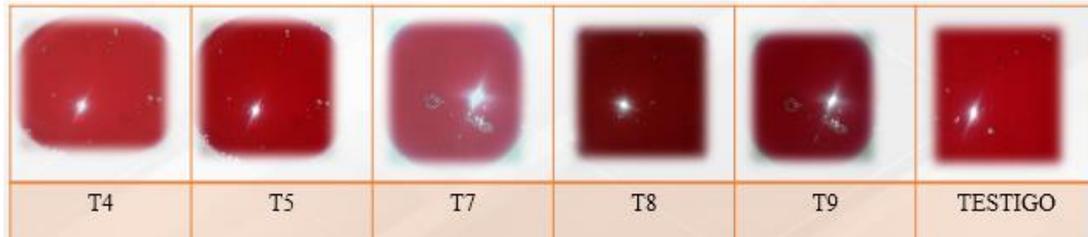
La gomita presenta un color rojo-violeta, acorde con la betalaína extraída de la hoja de remolacha.

Tabla 16 Resultado del cálculo en la variable color

Variable	X ²	X ² Tabular	
	Calculada	0,05	0,01
Color	27,1**	9,49	13,28

Figura 14 Calificación de la aceptabilidad para el color del producto final (gomita)





En la figura número 15 se puede observar la escala y la puntuación para el color de la gomita con respecto al testigo (E-162), donde los tratamientos T5 (17°C; 15 ml etanol) y T9 (20°C; 10 ml etanol) son los que tienen el mejor puntaje, ubicándolos dentro del color característico, siendo estos, los más agradables para el panel evaluador.

De acuerdo con los resultados de la prueba Friedman en la tabla 16, se evidenció que los panelistas encontraron una diferencia significativa en el color del producto final para los distintos tratamientos.

Esto se debería a que al someter a evaporación el etanol a una temperatura de 78°C se ve influenciada la estabilidad de las betalaínas, por tal motivo se utilizó el 1% de ácido ascórbico para inhibir la degradación, ya que este actúa como un agente antioxidante.

4.3.2.2 Aroma

Es la sensación percibida de sustancias volátiles por medio del sentido del olfato retenidos en cualquier alimento, éste no debe presentar contaminación de un olor con otro que no sea el indicado.

Tabla 17 Resultado del cálculo en la variable Aroma

Variable	X ²	X ² Tabular	
	Calculada	0,05	0,01
Aroma	1,81 ns	9,49	13,28

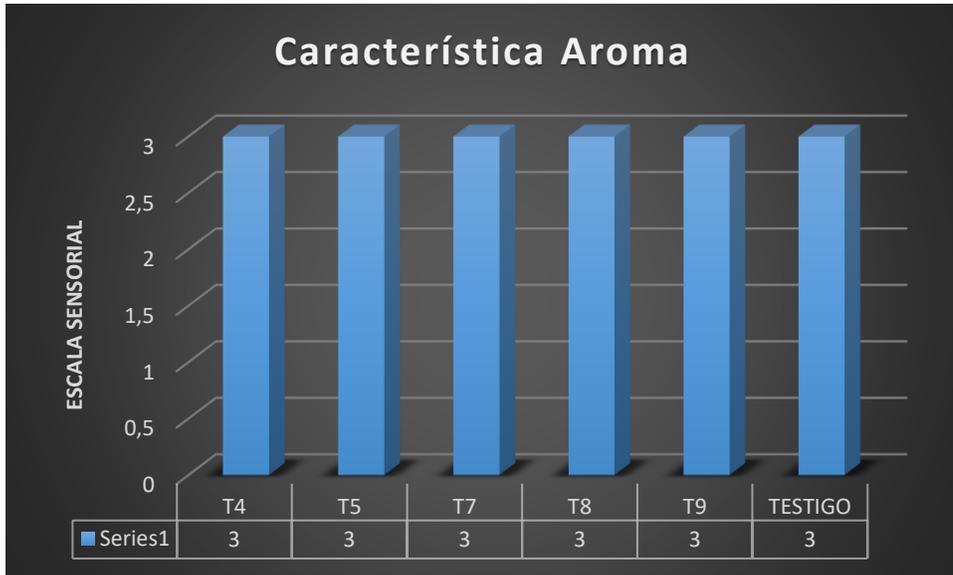


Figura 15 Puntuación para el aroma del producto final (gomita)

La figura 16 indica los resultados de la gomita con betaláina, donde se puede evidenciar que los panelistas percibieron el aroma característico al testigo en todos los tratamientos T4, T5, T7, T8 y T9, mismos que poseen gelatina sin sabor, glucosa y azúcar en su formulación, cabe mencionar que el producto final está libre de saborizante artificial.

4.3.2.3 Sabor

Se percibe mediante sensaciones como efecto de un estímulo de papilas gustativas, es decir, depende de la interacción tanto del sentido del gusto.

Tabla 18 Resultado del cálculo en la variable sabor

Variable	X ²	X ² Tabular	
	Calculada	0,05	0,01
Sabor	24,51 **	9,49	13,28

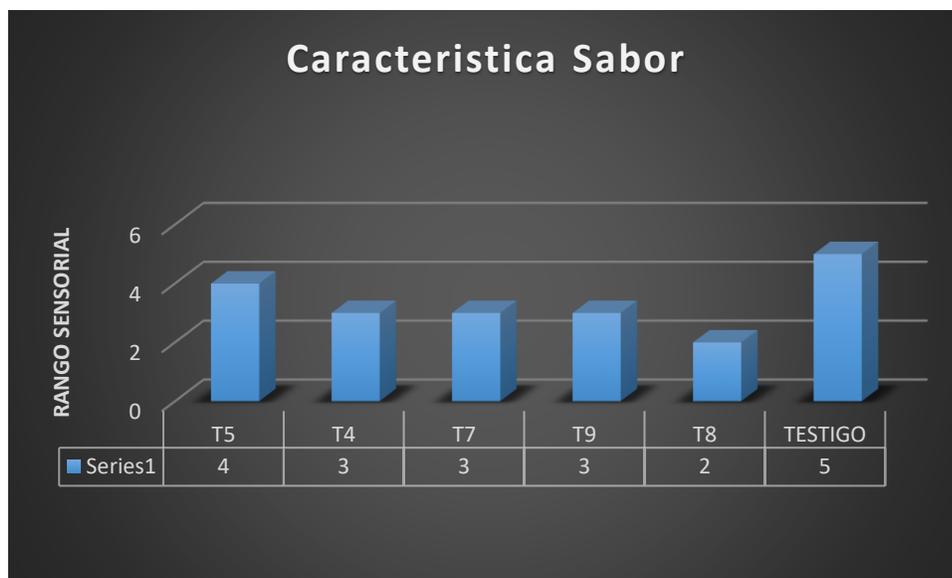


Figura 16 Puntuación para el sabor del producto final (gomita)

En la figura 18 se aprecian los resultados del análisis con respecto al sabor del producto final, evidenciándose así, que para el panel degustador no entrenado el tratamiento con mayor aceptación es T5 (17°C; 15 ml etanol) con una valoración de cuatro en la escala sensorial, donde el valor antes mencionado indica el poco agrado con respecto al testigo, seguido de los tratamientos T4 (17°C; 20 ml etanol), T7 (20°C; 20 ml etanol) y T9 (20°C; 10 ml etanol) los cuales muestran que ni les gusta, ni les disgusta el producto, finalizando con el tratamiento T8 (20°C; 15 ml etanol) siendo el que menos agradó al público.

4.3.2.4 Aceptabilidad

Tabla 19 Resultado del cálculo en la variable aceptabilidad

Variable	X ²	X ² Tabular	
	Calculada	0,05	0,01
Sabor	40,25 **	9,49	13,28

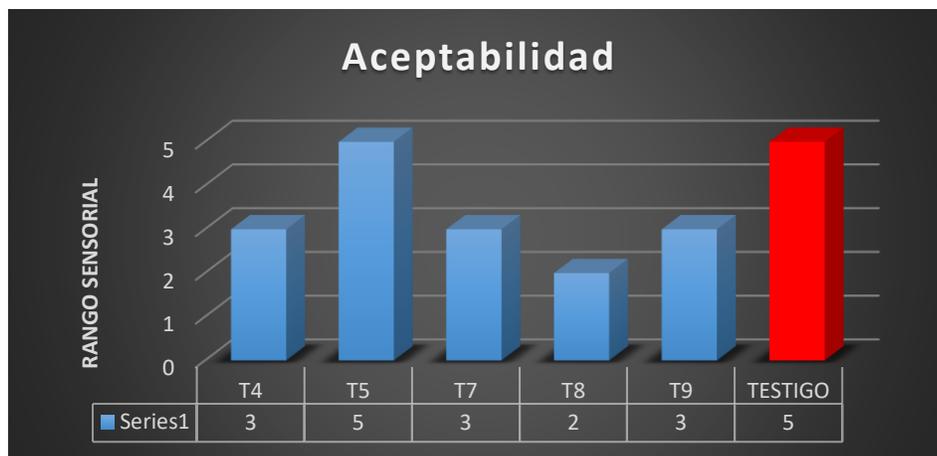


Figura 17 Puntuación para el sabor del producto final (gomita)

En la figura número 18 se puede observar los resultados de la variable aceptabilidad, en el cual se puede evidenciar que el tratamiento mejor puntuado por el panel degustador es T5 (17°C; 15 ml etanol). Por otro lado, los tratamientos T4, T7 y T9 obtuvieron un porcentaje igual, indicando así, que son los que no les gusto, ni les disgusto, sin embargo, T8 obtuvo el porcentaje más bajo siendo este el que más les disgusto.

Esto demuestra que los catadores se inclinaron por el tratamiento que presentó un color más agradable a la vista, de igual manera el aroma y el sabor. Esto se puede justificar que a mayor temperatura de extracción en el proceso ejercer un efecto mayor en las características organolépticas del producto final, esto debido a la estabilidad del color

ya que depender de factores como el pH, la temperatura, la exposición a la luz y reacción a la oxidación.

4.4 COSTOS DE EXTRACCIÓN

Explica Pacheco (2019), que los costos son todos los valores monetarios utilizados en un periodo de tiempo para la elaboración de servicios y son recuperables. Existen costos directos e indirectos, los costos directos son los que influyen de gran importancia en la realización de un producto, como por ejemplo los materiales y mano de obra directa.

En la tabla 21 y 22 se indica los costos variables y fijos de la extracción de betalaínas en estado líquido dando un costo variable total de \$ 6,05 y como un costo fijo total de \$1,78 dando un costo de producción total de \$ 7,83.

Tabla 20 Costos Variables de extracción

		Costo		Costo
	Unidad	unitario \$	Cantidad utilizar	total
MP (hoja de remolacha)	kg	1	0,025	0,025
Etanol	L	3,8	0,1	0,38
ácido cítrico	kg	7,5	0,01	0,075
Agua destilada	L	1,25	0,25	0,31
frascos color ámbar	u	0,26	1	0,26
Mano de obra D	h	2,5	2	5
<i>Costo total</i>				6,0525

Tabla 21 Costos Fijos de extracción

	Unidad	Costo unitario \$	Cantidad utilizar	Costo total
Gas	U	1,6	1	1,6
Luz	kWh	0,09	2	0,18
Agua	m ³	0,72	0,003	0,00216
<i>Costo total</i>				1,78216

El precio es un componente principal para la comercialización de un producto, con este se pretende dar algo justo, además en algunos casos es el principal atractivo para tomar la decisión de compra. Para la fijación del precio se debe tener en cuenta a qué tipo de mercado es el objetivo, por efectos del estudio el precio del nuevo producto se basa inicialmente en precios del mercado (Obando, 2014, pág. 95)

Se analizaron cada uno de los factores utilizados en la extracción de betalaína con la finalidad de calcular de una manera más correcta el precio de extracción en estado líquido:

$$\mathbf{Costo\ total} = \frac{\mathbf{costo\ fijo+costo\ variable}}{\mathbf{total\ de\ unidades\ producidas}} \quad (2)$$

$$\mathbf{Costo\ total} = \frac{\$6,05 + \$1,78}{1\ u}$$

$$\mathbf{Costo\ total} = \$7,83/40\ ml$$

$$\mathbf{Costo\ total} = \$0,19\ ml$$

Cabe mencionar que el valor de \$7,83 es el valor estimado para obtener una unidad de 40 ml de betalaína, sin embargo, este valor fluctuará dependiendo si el producto se encuentra pulverizado, se debe mencionar que el valor obtenido se dividió para 40 ml y así conseguir el precio por ml que dio como resultado \$ 0,19 ctv.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

- La caracterización de la materia prima reveló que las hojas crudas de remolacha (*Beta vulgaris*), tienen características físico-químicas que están dentro de los parámetros normales como materia prima para la extracción y que sí se puede considerar una fuente de betalaínas.
- Se determinó que las variables temperatura y relación disolvente-soluto actuaron conjuntamente en el proceso de extracción por lixiviación, sin embargo, el efecto producido por la relación disolvente/soluto es mayor que el efecto de la temperatura siendo la relación (3:1) la ideal para obtener el mejor rendimiento de betalaínas.
- Los pH correspondientes a los extractos de las hojas de remolacha se encontraron dentro del rango establecido lo cual resulta particularmente adecuado para su aplicación en una amplia gama de productos alimenticios.
- El costo beneficio para la extracción es una desventaja debido a que las betalaínas tienden a degradarse fácilmente en disolución por la presencia de luz, oxígeno y temperatura, acortando así su vida útil, por ello los productos sintéticos tienen menor precio y una vida útil más larga

5.2 RECOMENDACIONES

1. Establecer condiciones de extracción a temperaturas superiores de 25°C y realizar un seguimiento a la estabilidad de la betalaína.
2. Para estudios similares se recomienda aplicar un conservante con la finalidad de alargar la vida útil de la betalaína.
3. Realizar el análisis económico global y determinar si el producto final es viable para establecer una planta de producción del colorante natural.

BIBLIOGRAFÍA

- Casierra-Posada, F., & Pinto-Correa, J. R. (2011). Crecimiento de Plantas de Remolacha (*Beta vulgaris* L. var. Crosby Egipcia) Bajo Coberturas de Color. *Redalyc.org*, 6081-6091.
- Catellanos, E. (2008). Identification and Quantification of Betalains from the Fruits of 10 Mexican Prickly Pear Cultivars by High-Performance Liquid Chromatography and Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 5758 - 5764.
- Cazorla, J. (2018). *Aplicación de la técnica de microencapsulación de betalaínas extraídas a partir de la remolacha (Beta vulgaris)*. Ambato.
- Cazorla, J. (Junio de 2018). *Aplicación de la técnica de microencapsulación de betalainas extraídas a partir de la remolacha (Beta vulgaris)*.
- Celis, I. (2019). *Fundamentos y metodologías básicas de evaluación sensorial, en el entrenamiento de un panel sensorial (caso práctico: cerveza artesanal)*. Obtenido de <http://bdigital.unal.edu.co/74042/1/71730509-2019.pdf>
- Cevallos, I. (2018). *Técnicas de identificación y cuantificación de los principios activos con potencial uso en el sector cosmético encontrados en las especies del género Opuntia de la familia Cactaceae*. Obtenido de <http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/14470/Monograf%c3%ada%20Mabel%20Cevallos.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Chiu, Z. (2011). Caracterización de las propiedades ópticas de Betacianinas y Betaxantinas por. *Scielo*, 113-120.
- Coello, F. (2019). *ESTIMACIÓN DE IMPACTOS AMBIENTALES BASADO EN EL ANÁLISIS DE CICLO DE VIDA DE LA FASE AGRÍCOLA DE LA CADENA AGROALIMENTARIA CONVENCIONAL Y AGROECOLÓGICA*

DE LA REMOLACHA (BETA VULGARIS) EN EL CANTÓN CAYAMBE.
Quito.

- Cruz, M. &. (2012). BETALAÍNAS, COMPUESTOS FENÓLICOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN PITAYA DE MAYO (*Stenocereus griseus* H.). *Rev. Fitotec. Mex*, 3 - 5.
- Díaz, B. y. (2011). *Espectrofotetría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas* . Obtenido de https://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/08_ESPECTROFOTOMETRIA.pdf
- EFSA. (2010). *Remolacha*. Obtenido de http://formacion.intef.es/pluginfile.php/86689/mod_imsdp/content/10/39-remolacha.pdf
- Fernandez, A. (2017). CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE FRUTOS DE VARIEDADES SILVESTRES DE OPUNTIA DE DOS REGIONES SEMIÁRIDAS DE JALISCO, MEXICO. *Redalyc.org*, 2395-9525.
- Flores, M. (2019). ESTRUCTURA Y ESTABILIDAD DE LAS BETALAINAS. *Interciencia*, 318-325.
- Fuentes, H. (2018). Influencia de los compuestos bioactivos de betarraga (*Beta vulgaris* L) sobre el efecto cardio-protector. *Scielo*, 178-182.
- Fuentes, Hector. (2018). Influencia de los compuestos bioactivos de betarraga (*Beta vulgaris* L) sobre el efecto cardio-protector: Una revisión narrativa. *Scielo*, 178-182.
- Garcia, F. (Abril de 2011). *Investigación y ciencia*. Obtenido de <https://www.investigacionyciencia.es/files/2981.pdf>

- Garcia, L. (2012). BETALAÍNAS, COMPUESTOS FENÓLICOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN. *revista Fitotec Mexico*, 1-5.
- INAMHI. (2019). *RED DE ESTACIONES METEOROLÓGICAS E HIDROLÓGICAS*. Obtenido de <http://www.serviciometeorologico.gob.ec/>
- INEC. (2016). *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua*.
- Lopez, L. (2013). Efecto del procesamiento térmico sobre el contenido de betalainas y la actividad antioxidante del betabel (*Beta vulgaris L.*). 1-4.
- Maldonado, S. (2003). *ANTOCIANOS Y BETALAÍNAS COLORANTES NATURALES DE APLICACIÓN INDUSTRIAL*. Chile: CYTED. Obtenido de <https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/61049889/>
- Mardujano, R. (febrero de 2006). *Estudio preliminar de los pigmentos presente en la cascara de Pitahaya (Stenocereus stellatus) de la región Mixteca*. Obtenido de http://jupiter.utm.mx/~tesis_dig/9816.pdf
- Martin, I. (2011). *Mecánica de fluidos.- Operaciones separación sólido-Fluido*. Obtenido de https://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/20299/11/tema5_operaciones%20separacion.pdf
- McCabe, W. (2007). *Operaciones unitarias de ingeniería química*. Mexico: INTERAMERICANA EDITORES, SA de CV.
- Muñoz, O. (2003). *Antocianas y Betalaínas Colorantes Naturales de Aplicación Industrial*. Santiago de Chile: Salecianos S.A. Obtenido de [ANTOCIANOS_Y_BETALAINAS_COLORANTES_NATURALES_DE_APLICACION_INDUSTRIAL.pdf](#)
- Pacheco, F. (2019). *Costos de Producción*. Colombia: Búhos editores Ltda.

- Restrepo, D. (2009). Extraction of compounds with antioxidant activity in guava (*Psidium guajava* L.) fruit produced in Vélez-Santander, Colombia. *Scielo.org*, 1517-1522.
- Robles, M. (2018). Contenido de betalainas y actividad antioxidante en brácteas de *Bougainvillea glabra* Choisy. *revfarmacia*.
- Rogel, A. (07 de 12 de 2018). *FES ZARAGOZA*. Obtenido de <https://www.zaragoza.unam.mx/wp-content/Portal2015/Licenciaturas/iq/manuales/LaboratorioProyectos6.pdf#page=139>
- Sanchez, N. (2006). *EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LOS PRINCIPALES PIGMENTOS DEL Opuntia joconoste c.v. (xoconostle)* . Obtenido de <https://docplayer.es/84145420-Instituto-politecnico-nacional-area-de-alimentos-extraccion-y-caracterizacion-de-los-principales-pigmentos-del-opuntia-joconoste-c-v.html>
- Takács, M. (6 de Febrero de 2022). Evaluation of bioactive compounds in leaf and root of five. *Evaluation of bioactive compounds in leaf and root of five*, págs. 1-8. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100280>
- Tsia. (10 de Mayo de 2018). *Betalainas: importancia, presencia en vegetales y sus aplicaciones en la industria alimentaria*. Obtenido de <https://tsia.udlap.mx/betalainas-importancia-presencia-en-vegetales-y-sus-aplicaciones-en-la-industria-alimentaria/>
- Vargas, A. (25 de Diciembre de 2017). *slideshare*. Obtenido de <https://es.slideshare.net/JAlfredoVargas/extraccin-solido-liquido#:~:text=FACTORES%20QUE%20AFECTAN%20LA%20EXTRACCI%C3%93N,calidad%20no%20alterada%20por%20el>
- Vergara, C. (2013). *EXTRACCIÓN Y ESTABILIZACIÓN DE BETALAÍNAS DE TUNA PÚRPURA (Opuntia ficus-indica) MEDIANTE TECNOLOGÍA DE*

*MEMBRANAS Y MICROENCAPSULACIÓN, COMO COLORANTE
ALIMENTARIO.* Santiago de Chile.

ANEXOS

Anexo N°1

Figura 18 Resultado del análisis fisicoquímico de la materia prima realizado en LASA laboratorios



INFORME DE RESULTADOS

INF.LASA-14-12-21-6021
ORDEN DE TRABAJO No. 21-6109

INFORMACIÓN DEL CLIENTE		
SOLICITADO POR: JARAMILLO VIRACUCHA NATHALY SILVANA	DIRECCIÓN: PARROQUIA LLOA	
TELÉFONO/FAX: 3816068	TIPO DE MUESTRA: ALIMENTO	PROCEDENCIA: PLANTA
IDENTIFICACION: HOJAS DE REMOLACHA	CODIGO INICIAL: M1 - F.E. 01-12-2021	

Información suministrada por el cliente

INFORMACIÓN DEL LABORATORIO			
MUESTREO POR: SOLICITANTE	FECHA DE MUESTREO: -	INGRESO AL LABORATORIO: 01/12/2021	
FECHA DE ANALISIS: 01-14/12/2021	FECHA DE ENTREGA: 14/12/2021	NUMERO DE MUESTRAS: Una (1)	
CODIGO DE MUESTRA: 21-17037	REALIZACION DE ENSAYOS: LABORATORIO		

ANÁLISIS FÍSICO - QUÍMICO

ITEM	PARÁMETROS	UNIDADES	RESULTADOS	INCERTIDUMBRE U (k=2)	MÉTODO DE ENSAYO
1	CENIZAS	%	2,4	-	^b PEE.LASA.FQ.10c Gravimetría *
2	HUMEDAD	%	89,2	-	^b PEE.LASA.FQ.10 Gravimetría *
3	pH (solución al 10%)	Unidades de pH	6,68	-	^b PEE.LASA.FQ.03n Potenciométrico*
4	BETALAINA	mg/g	0,5526	-	^b Espectrofotometría UV-VIS*

Los ensayos marcados con * NO están incluidos en el alcance de acreditación del SAE

Los ensayos marcados con (b) NO están incluidos en el alcance de acreditación de A2LA.

Los ensayos marcados con (a) ESTÁN incluidos en el alcance de acreditación de A2LA.

NOTA: mg Betalaina por g de hoja seca. Peso Molecular: 550 g/mol. epsilon: 60000 L/mol.cm. long. onda: 535 nm.

QUÍM. PABLO SAAVEDRA
JEFE DE DEPARTAMENTO

Prohibida la reproducción parcial por cualquier medio sin permiso por escrito del laboratorio.

LASA se responsabiliza exclusivamente del resultado correspondiente a los ensayos en la muestra recibida en el laboratorio, por el contrario no se responsabiliza de la información proporcionada por el cliente asociada a la muestra así como sus datos descriptivos.

Los criterios de conformidad serán emitidos solamente si el cliente lo solicita por escrito.

El laboratorio se compromete con la Integridad y Confidencialidad de la información y los resultados (la aceptación de este informe implica la aceptación de la política relativa al tema y descrita en www.laboratoriolasa.com)

Pág. 1 de 1

Anexo N° 2

Tabla 22 Rendimiento (mg/ml) de Betalaínas en función de la relación disolvente/soluto y la temperatura para la extracción de betalaína a partir de las hojas de remolacha de la repetición número uno.

HOJA DE REMOLACHA		BETALAÍNA (mg/ml)		BETALAINA
Temperatura	Relación S-L	Betanina	Betaxantina	
(°C)	(ml)	mg/L	mg/L	mg/ml
14	20	7,65	27,79	30,40
	15	4,79	20,47	32,46
	10	3,05	26,09	29,08
17	20	4,52	25,03	32,99
	15	10,56	35,52	45,43
	10	3,90	25,71	30,90
20	20	11,04	28,30	38,57
	15	9,25	32,35	43,29
	10	3,42	22,65	23,92

Tabla 23 Rendimiento (mg/ml) de Betalaínas en función de la relación disolvente/soluto y la temperatura para la extracción de betalaína a partir de las hojas de remolacha de la repetición número dos.

HOJA DE REMOLACHA		BETALAÍNA (mg/ml)		BETALAINA
Temperatura	Relación S-L	Betanina	Betaxantina	
(°C)	(ml)	mg/L	mg/L	mg/ml
	20	4,21	21,15	25,36
14	15	7,71	25,70	33,41
	10	3,09	25,93	29,02
	20	6,38	30,06	36,44
17	15	9,79	34,99	44,98
	10	3,98	28,21	32,19
	20	5,37	19,40	24,77
20	15	11,46	33,52	44,78
	10	2,98	18,78	21,76

Anexo N° 3

Tabla 24 Rendimiento (mg/ml) de Betalaínas en función de la relación disolvente/soluto y la temperatura para la extracción de betalaína a partir de las hojas de remolacha

HOJA DE REMOLACHA		TRATAMIENTO	MEDIA	DESVIACIÓN ESTANDAR
Temperatura (°C)	Relación S-L (ml)		(mg/ml)	mg/ml
14	20	T1	30,40	7,12
	15	T2	32,46	1,35
	10	T3	29,08	0,08
17	20	T4	32,99	4,87
	15	T5	45,43	0,91
	10	T6	30,90	1,82
20	20	T7	38,57	1,08
	15	T8	43,29	2,38
	10	T9	23,92	3,04

Anexo N° 3

Figura 19 Resultado del análisis de antioxidantes por el método FRAP.



INFORME DE RESULTADOS

INF.LASA-30-03-22-1281
ORDEN DE TRABAJO No. 22-1397

INFORMACIÓN DEL CLIENTE			
SOLICITADO POR: JARAMILLO VIRACUCHA NATHALY SILVANA		DIRECCIÓN: PARROQUIA LLOA	
TELÉFONO/FAX: 3816068		TIPO DE MUESTRA: ALIMENTO	PROCEDECENCIA: PLANTA
IDENTIFICACIÓN: EXTRACTO DE HOJA DE REMOLACHA (BETALAMINA)		INICIAL: M1 - FE: 17/03/22 T5 T=17 °C V= 15 ML ETANOL(80%)	

Información suministrada por el cliente

INFORMACIÓN DEL LABORATORIO			
MUESTREO POR: SOLICITANTE	FECHA DE MUESTREO: -	INGRESO AL LABORATORIO: 25/03/2022	
FECHA DE ANÁLISIS: 25-30/03/2022	FECHA DE ENTREGA: 30/03/2022	NÚMERO DE MUESTRAS: Una (1)	
CÓDIGO DE MUESTRA: 22-3973	REALIZACIÓN DE ENSAYOS: LABORATORIO		

ANÁLISIS FÍSICO - QUÍMICO

ITEM	PARÁMETROS	UNIDADES	RESULTADOS	INCERTIDUMBRE U (k=2)	MÉTODO DE ENSAYO
1	PODER ANTIOXIDANTE FRAP	mg EAA/l	375	-	^b Espectrofotometría FRAP *

Los ensayos marcados con * NO están incluidos en el alcance de acreditación del SAE.
Los ensayos marcados con (b) NO están incluidos en el alcance de acreditación de A2LA.
EAA: Equivalentes de Ácido Ascórbico



QUÍM. PABLO SAAVEDRA
JEFE DE DEPARTAMENTO

Elaborado por: Andrea López
Prohibida la reproducción parcial por cualquier medio sin permiso por escrito del laboratorio.
LASA se responsabiliza exclusivamente del resultado correspondiente a los ensayos en la muestra recibida en el laboratorio, por el contrario no se responsabiliza de la información proporcionada por el cliente asociada a la muestra así como sus datos descriptivos.
Los criterios de conformidad serán emitidos solamente si el cliente lo solicita por escrito.
El laboratorio se compromete con la Imparcialidad y Confidencialidad de la información y los resultados (la aceptación de este informe implica la aceptación de la política relativa al tema y declarada en www.laboratoriolasa.com)

Pág. 1 de 1

Juan Ignacio Pareja 0e5-97 y Simón Cárdenas | clientes@laboratoriolasa.com
(02) 2269012 | (02) 2468659 | 0995707705

INFORME DE RESULTADOS

INF.LASA-30-03-22-1282
ORDEN DE TRABAJO No. 22-1397

INFORMACIÓN DEL CLIENTE			
SOLICITADO POR: JARAMILLO VIRACUCHA NATHALY SILVANA		DIRECCIÓN: PARROQUIA LLOA	
TELÉFONO/FAX: 3816068	TIPO DE MUESTRA: ALIMENTO	PROCEDENCIA: PLANTA	
IDENTIFICACIÓN: EXTRACTO DE HOJA DE REMOLACHA (BETALAMINA)		INICIAL: M2 - FE:17/03/22 T7 T=20 °C V= 20 ML ETANOL	

Información suministrada por el cliente

INFORMACIÓN DEL LABORATORIO			
MUESTREO POR: SOLICITANTE	FECHA DE MUESTREO: -	INGRESO AL LABORATORIO: 25/03/2022	
FECHA DE ANÁLISIS: 25-30/03/2022	FECHA DE ENTREGA: 30/03/2022	NÚMERO DE MUESTRAS: Una (1)	
CÓDIGO DE MUESTRA: 22-3974	REALIZACIÓN DE ENSAYOS: LABORATORIO		

ANÁLISIS FÍSICO - QUÍMICO

ITEM	PARÁMETROS	UNIDADES	RESULTADOS	INCERTIDUMBRE U (k=2)	MÉTODO DE ENSAYO
1	PODER ANTIOXIDANTE FRAP	mg EAA/l	722	-	^b Espectrofotometría FRAP *

Los ensayos marcados con * NO están incluidos en el alcance de acreditación del SAE
Los ensayos marcados con (b) NO están incluidos en el alcance de acreditación de A2LA.
EAA: Equivalentes de Ácido Ascórbico



QUÍM. PABLO SAAVEDRA
JEFE DE DEPARTAMENTO

Elaborado por: Andrea López

Prohibida la reproducción parcial por cualquier medio sin permiso por escrito del laboratorio.

LASA se responsabiliza exclusivamente del resultado correspondiente a los ensayos en la muestra recibida en el laboratorio, por el contrario no se responsabiliza de la información proporcionada por el cliente asociada a la muestra así como sus datos descriptivos.

Los criterios de conformidad serán emitidos solamente si el cliente lo solicita por escrito.

El laboratorio se compromete con la Imparcialidad y Confidencialidad de la información y los resultados (la aceptación de este informe implica la aceptación de la política relativa al tema y declarada en www.laboratoriolasa.com)

Pág. 1 de 1

INFORME DE RESULTADOS

INF.LASA-30-03-22-1283
ORDEN DE TRABAJO No. 22-1397

INFORMACIÓN DEL CLIENTE		
SOLICITADO POR: JARAMILLO VIRACUCHA NATHALY SILVANA	DIRECCIÓN: PARROQUIA LLOA	
TELÉFONO/FAX: 3816068	TIPO DE MUESTRA: ALIMENTO	PROCEDENCIA: PLANTA
IDENTIFICACIÓN: EXTRACTO DE HOJA DE REMOLACHA (BETALAMINA)	INICIAL: M3 - FE:17/03/22 T5 T=20 °C V= 15 ML ETANOL	

Información suministrada por el cliente

INFORMACIÓN DEL LABORATORIO		
MUESTREO POR: SOLICITANTE	FECHA DE MUESTREO: -	INGRESO AL LABORATORIO: 25/03/2022
FECHA DE ANÁLISIS: 25-30/03/2022	FECHA DE ENTREGA: 30/03/2022	NÚMERO DE MUESTRAS: Una (1)
CÓDIGO DE MUESTRA: 22-3975	REALIZACIÓN DE ENSAYOS: LABORATORIO	

ANÁLISIS FÍSICO - QUÍMICO

ITEM	PARÁMETROS	UNIDADES	RESULTADOS	INCERTIDUMBRE U (k=2)	MÉTODO DE ENSAYO
1	PODER ANTIOXIDANTE FRAP	mg EAA/l	714	-	^b Espectrofotometría FRAP *

Los ensayos marcados con * NO están incluidos en el alcance de acreditación del SAE
Los ensayos marcados con (b) NO están incluidos en el alcance de acreditación de A2LA.
EAA: Equivalentes de Ácido Ascórbico

3 / 4




QUÍM. PABLO SAAVEDRA
JEFE DE DEPARTAMENTO

Elaborado por: Andrea López
Prohibida la reproducción parcial por cualquier medio sin permiso por escrito del laboratorio.
LASA se responsabiliza exclusivamente del resultado correspondiente a los ensayos en la muestra recibida en el laboratorio, por el contrario no se responsabiliza de la información proporcionada por el cliente asociada a la muestra así como sus datos descriptivos.
Los criterios de conformidad serán emitidos solamente si el cliente lo solicita por escrito.
El laboratorio se compromete con la Imparcialidad y Confidencialidad de la información y los resultados (la aceptación de este informe implica la aceptación de la política relativa al tema y declarada en www.laboratoriolasa.com)

Pág. 1 de 1

Anexo N° 4

Figura 20 Tabla FRIEDMAN puntos críticos.

Tabla M. Valores críticos para la prueba estadística de análisis de varianza bifactorial por rangos de Friedman, F_r^*

k	N	$\alpha \leq .10$	$\alpha \leq .05$	$\alpha \leq .01$	
3	3	6.00	6.00	-	
	4	6.00	6.50	8.00	
	5	5.20	6.40	8.40	
	6	5.33	7.00	9.00	
	7	5.43	7.14	8.86	
	8	5.25	6.25	9.00	
	9	5.56	6.22	8.67	
	10	5.00	6.20	9.60	
	11	4.91	6.54	8.91	
	12	5.17	6.17	8.67	
	13	4.77	6.00	9.39	
	∞		4.61	5.99	9.21
	4	2	6.00	6.00	-
3		6.60	7.40	8.60	
4		6.30	7.80	9.60	
5		6.36	7.80	9.96	
6		6.40	7.60	10.00	
7		6.26	7.80	10.37	
8		6.30	7.50	10.35	
∞			6.25	7.82	11.34
5		3	7.47	8.53	10.13
	4	7.60	8.80	11.00	
	5	7.68	8.96	11.52	
	∞		7.78	9.49	13.28

Anexos N° 5.- Prueba hedónica para el análisis sensorial

➤ **OBJETIVO**

Identificar cual es el mejor tratamiento en cuanto al colorante (betalaína) aplicado en las gomitas con respecto al testigo R(E162).

- Pruebe por favor la muestra e identifique su nivel de agrado marcando el punto en la escala que mejor describa su reacción para cada uno de los atributos con respecto al testigo R(E162).

➤ **CARACTERÍSTICA COLOR**

	M1 (T4)	M2 (T5)	M3 (T7)	M4 (T8)	M5 (T9)
1. Muy opaco					
2. Opaco					
3. Característico					
4. Claro					
5. Muy claro					
OBSERVACIONES					

➤ **CARACTERISTICA SABOR**

	M1 (T4)	M2 (T5)	M3 (T7)	M4 (T8)	M5 (T9)
1. Desagrada mucho					

2. Desagrada poco					
3. Ni agrada, ni desagrada					
4. Agrada poco					
5. Agrada mucho					
OBSERVACIONES					

➤ **CARACTERISTICA AROMA**

	M1 (T4)	M2 (T5)	M3 (T7)	M4 (T8)	M5 (T9)
1. Nada perceptible					
2. Poco perceptible					
3. Característico					
4. Casi perceptible					
5. Muy perceptible					
OBSERVACIONES					

➤ **CARACTERISTICA ACEPTABILIDAD**

	M1 (T4)	M2 (T5)	M3 (T7)	M4 (T8)	M5 (T9)
1. Disgusta mucho					
2. Disgusta poco					
3. No le gusta ni le disgusta					
4. Le gusta moderadamente					
5. Le gusta mucho					
OBSERVACIONES					

Anexo N° 6.- Prueba Friedman para la variable color.

N	T4	T5	T7	T8	T9
1	2	3	5	4	1
2	1	4	2	3	5
3	4	3	5	2	1
4	5	3	4	2	1
5	5	3	4	1	2
6	4	3	5	2	1
7	5	3	4	1	2
8	5	4	2	1	3
9	5	4	2	1	3
10	2	4	5	1	3
11	5	3	2	1	4
12	4	5	2	1	3
13	5	3	4	2	1
14	5	3	4	2	1
15	4	3	1	2	5

16	1	3	4	4	3
17	1	4	2	3	5
18	5	3	2	1	4
19	5	4	2	1	3
20	5	3	4	1	2
21	5	4	2	3	1
22	5	4	1	2	3
23	5	3	2	1	4
24	5	1	4	3	2
25	5	3	4	2	1
26	5	4	2	3	1
27	1	3	4	4	3
28	5	4	2	1	3
29	1	3	4	4	3
30	4	3	5	2	1

Media	5	3	4	2	3
Suma	119	100	95	61	75

