



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO®



Instituto Tecnológico de Toluca

**“OBTENCIÓN, ANÁLISIS Y CONSERVACIÓN DE PIGMENTOS DE BETABEL
UTILIZANDO SOLVENTES EUTÉCTICOS NATURALES”**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS EN INGENIERIA AMBIENTAL**

**PRESENTA:
ELIZABETH GARCÍA VALLE
No CONTROL:
M23281645**

**DIRECTORA DE TESIS:
DRA. CLAUDIA ROSARIO MURO URISTA**

**CO- DIRECTORA DE TESIS:
DRA. ANDREA YAZMIN GUADARRAMA LEZAMA**

METEPEC, ESTADO DE MÉXICO, JUNIO DE 2026



Instituto Tecnológico de Toluca
División de Estudios de Posgrado e Investigación

Metepec, Edo. de México, **12/Junio/2026**
DEPI-3200-389/2026

ELIZABETH GARCÍA VALLE
CANDIDATA AL GRADO DE MAESTRA
EN CIENCIAS EN INGENIERÍA AMBIENTAL

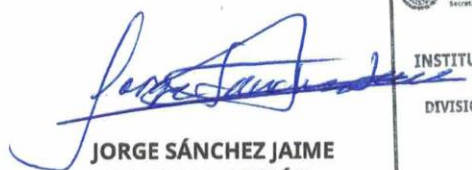
PRESENTE

De acuerdo con los Lineamientos para la Operación de los Estudios de Posgrado en el Tecnológico Nacional de México y las disposiciones en este Instituto, habiendo cumplido con todas las indicaciones que la Comisión Revisora realizó con respecto a su Trabajo de Tesis titulado **"OBTENCIÓN, ANÁLISIS Y CONSERVACIÓN DE PIGMENTOS DE BETABEL UTILIZANDO SOLVENTES EUTÉCTICOS NATURALES"**, la División de Estudios de Posgrado e Investigación de este Instituto, concede la Autorización para que proceda al envío del trabajo final vía correo Institucional.

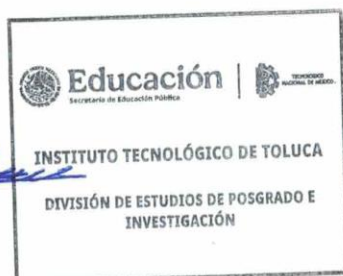
Sin más por el momento, quedo de usted.

ATENTAMENTE

Excelencia en Educación Tecnológica®
"Educación, integridad y ciencia"



JORGE SÁNCHEZ JAIME
JEFE DE LA DIVISIÓN
DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



ccp. Archivo
JSJ/mccl



2026
año de
**Margarita
Maza**





Educación
Secretaría de Educación Pública



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO



Instituto Tecnológico de Toluca
División de Estudios de Posgrado e Investigación

Metepec, Edo. de México, 09/Junio/2026
DEPI-3200-380/2026

DR. JORGE SÁNCHEZ JAIME
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS
DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

P R E S E N T E

Por este medio comunicamos a usted que la comisión Revisora designada para analizar la Tesis denominada **"OBTENCIÓN, ANÁLISIS Y CONSERVACIÓN DE PIGMENTOS DE BETABEL UTILIZANDO SOLVENTES EUTÉCTICOS NATURALES"**, que como parte de los requisitos para obtener el grado académico de **MAESTRA EN CIENCIAS EN INGENIERÍA AMBIENTAL** presenta el **C. ELIZABETH GARCÍA VALLE** con número de control **M23281645** para sustentar el acto de Recepción Profesional, ha dictaminado que dicho trabajo reúne las características de contenido y calidad para proceder a la impresión del mismo.

A T E N T A M E N T E

DRA. CLAUDIA ROSARIO MURO URISTA
DIRECTORA DE TESIS

DRA. ANDREA YAZMIN GUADARRAMA LEZAMA
CODIRECTORA DE TESIS

DRA. YOLANDA ALVARADO PÉREZ
REVISORA DE TESIS

DRA. MARÍA DEL CARMEN CARREÑO DE LÉON
REVISORA DE TESIS

ccp. Archivo
JSJ/mccl



2026
año de
Margarita
Maza



Av. Tecnológico S/N, Col. Agrícola Bellavista, Metepec, Edo. de México, C.P. 52149,
Tels. Dirección: 7222087205, Conmut.: 7222087200, e-mail: info@toluca.tecnm.mx
toluca.tecnm.mx

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradezco a Dios por permitirme llegar hasta este momento tan significativo de mi vida. Gracias por brindarme fortaleza en los momentos de dificultad, sabiduría para enfrentar los retos y esperanza para continuar cuando el cansancio parecía vencerme. Este logro es una muestra de Su infinita gracia y de las bendiciones que ha derramado sobre mi vida.

A mi amado esposo, quiero expresar mi más profundo agradecimiento por tu amor, comprensión y apoyo incondicional. Gracias por acompañarme durante este proceso, por escucharme, alentarme y creer en mí incluso cuando las circunstancias parecían difíciles. Tu paciencia, sacrificio y confianza fueron fundamentales para que pudiera alcanzar esta meta. Este logro también te pertenece, porque eres mi compañero fiel en cada desafío y en cada triunfo.

A Rodrigo, gracias por inspirarme a ser una mejor persona y por comprender las horas que dediqué a este proyecto. A Ricardo Herón, gracias por regalarme ternura, ilusión y la fuerza necesaria para seguir adelante aun en los momentos más exigentes. Cada paso dado durante esta maestría estuvo impulsado por el deseo de ser un ejemplo para ustedes y de demostrarles que los sueños pueden alcanzarse con dedicación, esfuerzo y perseverancia.

A mis padres, les agradezco con todo mi corazón por su amor infinito, por los valores que me inculcaron y por el ejemplo de trabajo, responsabilidad y honestidad que siempre me han brindado. Gracias por creer en mí desde el inicio, por apoyarme en cada etapa de mi formación y por enseñarme que la educación es una de las herramientas más valiosas para transformar la vida. Todo lo que soy hoy tiene sus raíces en el amor, los principios y las enseñanzas que me han dado.

A toda mi familia, gracias por su comprensión, por sus palabras de aliento y por acompañarme durante este importante recorrido. Su cariño y apoyo fueron una

fuentes constante de motivación para no rendirme y continuar avanzando hacia esta meta.

Finalmente, expreso mi más sincero agradecimiento a mis directoras de tesis y a mis tutores y compañeras, por compartir generosamente sus conocimientos, experiencia y orientación durante el desarrollo de esta investigación. Gracias por su tiempo, dedicación, paciencia y valiosas observaciones, las cuales enriquecieron significativamente este trabajo. Su acompañamiento académico fue fundamental para culminar con éxito esta etapa de mi formación profesional.

A todos ustedes, gracias por ser parte de este logro. Esta tesis representa no solo el resultado de mi esfuerzo y dedicación, sino también el amor, la confianza y el apoyo de cada una de las personas que caminaron conmigo a lo largo de este proceso.

RESUMEN

Los compuestos naturales a menudo se prefieren a los sintéticos, debido entre otras cosas a su capacidad de renovarse, así como los beneficios que ofrecen a la salud.

Lo mismo ocurre con los pigmentos usados en sectores como cosméticos, farmacéutico o alimenticio, que ocupan dichos pigmentos como una característica de calidad del producto. No obstante estudios recientes han demostrado que el uso de dichos pigmentos provoca efectos adversos sobre quien los consume, como problemas de hiperactividad, efectos en el ADN, reacciones alérgicas dermatológicas, enfermedades hepatorrenales, así como deficiencias en la memoria y el aprendizaje, lo que ha llevado su prohibición en diversos países y enfocarse en su normatividad.

Aunado a ello, la síntesis o el método de obtención de estos pigmentos generan contaminación. Por un lado, no pueden removerse con métodos convencionales de tratamiento de aguas, debido a las estructuras complejas que presentan por lo que la eliminación del color en los efluentes que sigue siendo un problema serio, mientras que por otro lado los solventes convencionales utilizados para la extracción representan una fuente de contaminación atmosférica. Sin embargo, no se han sustituido por otros solventes extractantes como el agua por problemas de estabilidad.

Se han extraídos pigmentos de fuentes naturales no obstante presentan un problema de estabilidad ya que se degradan y cambian de color.

Por lo anterior en el presente trabajo se ofrece una alternativa al uso de pigmentos sintéticos, específicamente para el color rojo, usando como fuente vegetal el betabel y como solvente de extracción los llamados solventes eutécticos naturales NADES considerados solventes verdes, que por sus propiedades como baja toxicidad, alta

biodegradabilidad, bajos costos y fácil preparación prometen ser una alternativa sustentable. Se verificará y comprobará la estabilidad del pigmento obtenido.

En el presente avance se mostrarán los resultados obtenidos de la selección de los NADES, síntesis de estos, así como la caracterización. Se discute el impacto de las propiedades fisicoquímicas de cada NADES y como impactará en la extracción de las betalaínas.

ABSTRACT

Natural compounds are often preferred over synthetic ones, due in part to their ability to regenerate and the health benefits they offer.

The same is true for pigments used in sectors such as cosmetics, pharmaceuticals, and food, which employ these pigments as a quality characteristic of the product. However, recent studies have shown that the use of these pigments causes adverse effects on consumers, such as hyperactivity, DNA damage, dermatological allergic reactions, liver and kidney diseases, as well as memory and learning impairments, leading to their prohibition in several countries and a focus on their regulation.

In addition, the synthesis or extraction methods of these pigments generate pollution. On the one hand, they cannot be removed with conventional water treatment methods due to their complex structures, making color removal from effluents a serious problem. On the other hand, the conventional solvents used for extraction represent a source of air pollution. However, they have not been replaced by other extracting solvents such as water due to stability issues.

Pigments have been extracted from natural sources; however, they present a stability problem since they degrade and change color.

Therefore, this work offers an alternative to the use of synthetic pigments, specifically for the color red, using beetroot as the plant source and natural eutectic solvents (NADES) as the extraction solvent. These solvents, considered "green" solvents, promise to be a sustainable alternative due to their properties such as low toxicity, high biodegradability, low cost, and ease of preparation. The stability of the obtained pigment will be verified and confirmed.

This progress report will present the results obtained from the selection, synthesis, and characterization of the NADES. The impact of the physicochemical properties of each NADES and how they affect the extraction of betalains will be discussed.

INDICE GENERAL

INTRODUCCIÓN	14
1. FUNDAMENTOS	16
1.1 Pigmentos naturales	18
1.2 Fuentes de pigmentos naturales del tipo betalaínas.....	21
1.3 Betabel.....	22
1.4 Factores que afectan la estabilidad de las betalaínas.	24
1.4.1 Temperatura	24
1.4.2 Potencial de hidrógeno	25
1.4.3 Luz.....	25
1.4.4 Oxígeno	26
1.4.5 Metales	26
1.4.6 Actividad de agua	26
1.4.7 Actividad enzimática	27
1.5 Solventes eutécticos naturales	27
2. MÉTODO	32
2.1 Obtención de solventes eutécticos naturales.....	33
2.2 Caracterización de los solventes eutécticos naturales (NADES).....	34
2.3 Extracción de betalaínas usando NADES.....	39
2.3.1 Preparación de la materia prima.....	40
2.3.2 Extracción	42
2.3.3 Caracterización del contenido y tipo de betalaínas extraídas.	42
2.4 Determinación de las condiciones de almacenamiento.	43
2.5 Determinación de las cinéticas de conservación de pigmentos de betabel	44

3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	45
3.1	Síntesis de NADES.....	45
3.2	Caracterización de los NADES	49
3.2.1	Características fisicoquímicas de los NADES.....	49
3.2.2	Estructura química de los NADES	54
3.3	Betalainas.....	60
3.3.1	Determinación de contenido de betalainas.....	60
3.4	Determinación de las condiciones de almacenamiento	63
3.5	Cinética de degradación	70
4.	CONCLUSIONES	74
5.	FUENTES CONSULTADAS	76

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1	Estructura del ácido betalámico y grupos estructurales de las betalaínas	21
Figura 1.2	Estructura química de las betalaínas presentes en Beta vulgaris.....	22
Figura 1.3	Diagrama de fase para una mezcla eutéctica.....	29
Figura 1.4	Carácter iónico de un reactivo	30
Figura 1.5	Ejemplo de la polaridad molecular neta de la Glucosa.....	31
Figura 2.1	Diagrama de flujo del método para la obtención.....	32
Figura 2.2	Imagen ilustrativa de la formación de un NADES.....	34
Figura 2.3	a), b) y c) Representación gráfica de la síntesis de un NADES.....	35
Figura 2.4	Medición de la densidad con picnómetro.....	36
Figura 2.5	Viscosímetro Brookfield DV-E.....	37
Figura 2.6	Conductímetro Hanna 5522.....	38
Figura 2.7	Obtención del extracto	40
Figura 2.8	Liofilizadora MARCA LABCONCO.....	41
Figura 2.9	Polvo de betabel liofilizado	41
Figura 2.10	Mediciones con UV-VIS	43
Figura 3.1	Ejemplo de NADES con apariencia viscosa.....	46
Figura 3.2	Ejemplo de formación de cristales en NADES.....	47

Figura 3.3	NADES 18 coloración marrón- amarillo.....	47
Figura 3.4	NADES 1-9 seleccionados para la extracción de betalainas...	48
Figura 3.5	Espectro FR-IR de los NADES 1, NADES 2 y NADES 9.....	54
Figura 3.6	Espectro FR-IR de los NADES 3 y NADES 4.....	55
Figura 3.7	Espectro FR-IR de los NADES 5 y NADES 6.....	56
Figura 3.8	Espectro FR-IR de los NADES 7 y NADES 8.....	57
Figura 3.9	Gráfico comparativo de concentración de betaxantinas vs tiempo (60 días).....	64
Figura 3.10	Gráfico comparativo de concentración de betacianinas vs tiempo (60 días).....	65
Figura 3.11	Gráfico comparativo de concentración de betalainas totales s vs tiempo (60 días)	66
Figura 3.12	Imagen comparativa de la apariencia de los extractos.....	69

INDICE DE TABLAS

Tabla 2.1	Lista de NADES sintetizados.....	33
Tabla 3.1	Resultados de la caracterización de los NADES.....	49
Tabla 3.2	Resultados de medición de contenido de betalainas.....	60
Tabla 3.3	Resultados de medición de contenido de betalainas después de 60 días.....	63
Tabla 3.4	Cinética de degradación de contenido de betalainas (mg/g) en NADES almacenadas a 4°C	72

INTRODUCCIÓN

Hoy en día existe un cuestionamiento sobre el uso de pigmentos sintéticos de uso alimentario, farmacéutico y cosmético porque causan serios problemas ambientales y de salud.

El consumo de estos pigmentos está asociado con problemas de hiperactividad, efectos en el ADN, reacciones alérgicas dermatológicas, enfermedades hepatorrenales, así como deficiencias en la memoria y el aprendizaje. Aunado a lo anterior también existen los problemas ambientales, ya que dichos pigmentos no pueden removerse de aguas residuales con tratamientos convencionales y son considerados como contaminantes de largo alcance, ocasionando que en algunos países la fabricación y consumo, esté limitada, poniendo principal atención en su regulación.

Como una alternativa a los pigmentos sintéticos se encuentran los pigmentos de fuentes naturales, sin embargo, en su mayoría son utilizados solventes convencionales para su extracción por ejemplo etanol, formaldehído, benceno, etc., no obstante, son considerados contaminantes atmosféricos ya que algunos de ellos están formados por compuestos orgánicos volátiles (COV) que son contaminantes atmosféricos y causantes de diversos efectos adversos a la salud. Por otro lado, los pigmentos naturales que son extraídos con agua presentan problemas de estabilidad y vida útil corta.

En respuesta a lo anterior, existen alternativas para sustituir los agentes de extracción convencionales por los llamados *Solventes Eutéticos Naturales* (NADES), conformados por dos o más componentes de origen natural como azúcares, vitaminas, aminoácidos, entre otros.

Dicho lo anterior, el objetivo general de esta investigación consiste en obtener pigmentos de betabel usando solventes eutécticos naturales considerándolos como pigmentos naturales seguros que puedan ser incorporados en formulaciones alimenticias, cosméticas o farmacéuticas. Para ello se establece la hipótesis que indica que el uso de solventes eutécticos mejora la estabilidad y vida media de pigmentos de betabel.

1. FUNDAMENTOS

En la actualidad, casi todos los alimentos procesados están asociados a pigmentos porque los alimentos con color son preferidos por el consumidor, ya que la calidad del producto se asocia directamente con esta propiedad (Martínez et al., 2016). Sin embargo, la mayoría de esos pigmentos son sintéticos, lo que puede causar daños a la salud, porque éstos agregan toxicidad al producto.

Debido a las alteraciones en la salud humana que causan algunos pigmentos sintéticos, su uso se ha reducido en la gran mayoría de países del mundo. También, ambientalmente se cuestiona su fabricación y aplicación porque generalmente contienen moléculas difíciles de degradar, generando contaminación y sumándose a los agentes contaminantes poco atendidos.

Bajo los argumentos anteriores, ya se cuenta con pigmentos naturales de uso alimentario que pueden sustituir a los sintéticos, incluso algunos ya son de uso industrial y han tenido gran aceptación para el consumidor, porque sus colores son suaves, brillantes y relajantes para el ojo humano, no causan peligros para la salud, y no ofrecen problemas de eliminación (Yadav et al., 2022). Además, poseen propiedades funcionales y ambientalmente tienen múltiples ventajas, siendo considerados ecológicos y sustentables porque provienen de fuentes renovables.

A las grandes ventajas del uso de los pigmentos naturales, se contraponen sus desventajas para su comercialización, lo que ha motivado la investigación en este ámbito, a fin de cubrir muchas cuestiones que requieren atención. Por ejemplo, el costo de obtención de los pigmentos naturales supera a los sintéticos, el rendimiento es menor, existen fuentes naturales que no han sido investigadas, residuos que se pueden aprovechar para su obtención, y hace falta mucha investigación en el campo de la estabilidad y vida útil de los pigmentos naturales, así como el uso de solventes de extracción menos dañinos a la salud y al ambiente.

En el tema de los solventes de extracción de pigmentos naturales, algunos son extraídos con agua; sin embargo, su vida útil es corta por su baja estabilidad; por tanto, no se pueden comercializar. Otros, requieren el uso de solventes orgánicos convencionales como alcoholes y los no polares como acetona, benceno, cloroformo, éter de petróleo y hexano, que son solventes tóxicos, pobremente biodegradables y son clasificados como contaminantes de largo alcance. Por tanto, el uso de estos solventes complica el reconocimiento de los pigmentos naturales como ecológicos, y causan también problemas a la salud.

Para reducir el problema de los solventes de extracción de pigmentos naturales, se ha propuesto el uso de solventes verdes denominados Generalmente Reconocidos como Seguros (GRAS) (Jiménez et al., 2014). Entre los GRAS se encuentran los disolventes eutécticos profundos (DES, *Deep Eutectic Solvents* por sus siglas en inglés) y disolventes eutécticos naturales (NADES, *Natural Deep Eutectic Solvents* por sus siglas en inglés) (Torres et al., 2020).

La relevancia de los solventes NADES radica en ser el grupo más atractivos de solventes alternativos, debido a su proceso de síntesis simple y a un posible bajo costo de preparación. También, son altamente ajustables y se pueden personalizar para satisfacer los intereses de una aplicación más específica. Sin embargo, las posibles características fisicoquímicas y biológicas de los DES para la salud humana y el medio ambiente son esencialmente importantes para explorarse para su uso en los sectores alimentario, cosmético y farmacéutico (Delgado et al., 2023).

Los NADES se han investigado mayormente para extraer biomoléculas para uso farmacéutico a partir de plantas y en general de fuentes naturales (Torres et al., 2020), también como parte del estudio de metabolismo celular (Young et al., 2019), medios de reacción para síntesis de nanopartículas (López et al., 2022) y extracción verde y eficiente de cannabidiol, tetrahidrocannabinol, cannabinol y cannabigerol de *Cannabis sativa* empleando disolventes eutécticos profundos naturales basados en mentol (Delgado et al., 2023), como agentes extractantes para compuestos activos

de uso alimentario, tales como “Natural deep eutectic solvents as a green extraction of polyphenols from spent coffee ground with enhanced bioactivities”, mismo que demuestra la eficiencia en el uso de un solvente NADES comparado con un solvente convencional para la extracción de polifenoles en residuos de café (García-Roldan et al., 2023).

Sin embargo, la aplicación de los NADES para extraer pigmentos naturales aún es escasa, existiendo un pequeño número de estudios centrados en este tema, tales como: Extracción y estabilización de betalaínas de cáscaras de betabel “*Beta Vulgaris*” usando solventes eutécticos naturales (Hernández et al., 2021), Evaluación del uso potencial del colorante extraído de la semilla de aguacate como producto funcional alimenticio (Tituaña et al., 2019).

De acuerdo con lo expuesto anteriormente, el uso de NADES como agentes de extracción de pigmentos naturales es un campo de investigación que aún tiene mucho camino por recorrer y que es necesario abordar para generar nuevo conocimiento acerca del tema.

1.1 Pigmentos naturales

Desde la antigüedad, el estudio de los pigmentos ha sido un tema atractivo para las distintas civilizaciones. Por la belleza de su colorido y las dificultades de su preparación, tradicionalmente, algunos han tenido una correspondencia simbólica relacionada con el poder, estatus social y situación económica. En muchos casos, incluso constituyeron un importante artículo de comercio. Desde los inicios de la alquimia ha existido relación entre ésta y la producción de nuevos pigmentos, así como con las técnicas asociadas a la extracción de colorantes y procesos de tinción (Moya et al., 2010).

Un pigmento natural es un compuesto orgánico que al aplicarlo a un sustrato fibra textil, cuero, papel, plástico, o un alimento le confiere un color permanente o semipermanente. Un pigmento se aplica en disolución o emulsión y el sustrato debe tener cierta afinidad para absorberlo. El pigmento es capaz de absorber determinadas longitudes de onda y son sustancias que se fijan en otros compuestos ante factores físicos o químicos.

A) Son algunos ejemplos de pigmentos naturales liposolubles:

- Clorofilas (E140 y 141): color verde. Se extrae químicamente de las plantas verdes., está presente en chicles, dulces, verduras, confituras, licores; se considera inocuo. Carotenoides (E160): color naranja amarillento obtenido a partir de extractos vegetales como la zanahoria, algas, son precursores de la vitamina A, se estabiliza mediante el ácido ascórbico y protege de la podredumbre por oxidación. Aparece en mantequillas, margarinas, queso, mayonesa, helados, postres, mazapán, sin efectos secundarios.
- Xantofilas (E161): color naranja procedente de la xantofila de ortigas o alfalfa. Se usa en salsas, condimentos, golosinas, pasteles, galletas. Se considera inocuo.

B) Algunos pigmentos naturales hidrosolubles son:

- Curcumina (E100): color naranja amarillento, extraído de la raíz de la cúrcuma u obtenido sintéticamente por fermentación con ayuda de bacterias. Aparece en refrescos, mermeladas, mantequillas, quesos, productos de pastelería y panadería, curry, té, salchichas y platos preparados a base de arroz. No presenta toxicidad, salvo predisposición alérgica.
- Riboflavina, lactoflavina o B2 (E101): color amarillo tirando a fluorescente, con un ligero olor. Es la vitamina B2. Se obtiene de la levadura de cerveza generalmente

sintética. Se encuentra en el hígado, verduras, sopas, salsas, pasta, productos lácteos y también es producida por la flora intestinal. Se considera inocuo.

- Cochinilla (E120): color rojo carmín. Se obtiene del caparazón seco de las hembras fecundadas del insecto cochinilla del nopal. Es estable a la luz, al calor y a los ácidos de las frutas. Su uso está muy extendido en licores, vinos de frutas, golosinas, refrescos, confituras, etc. También forma parte de la composición de algunos cosméticos como pintalabios. No se conocen sus efectos secundarios, pero es causante de algunas reacciones alérgicas (asma y perturbaciones gastrointestinales). Existe controversia no demostrada sobre si es posible que cause hiperactividad en niños.
- Caramelo (E150): color marrón. Existen distintos tipos obtenidos por calentamiento de azúcar o almidón, algunos en presencia de amoníaco o sulfito amónico. Aparece en golosinas, cola, cerveza, bebidas alcohólicas, bollería, pan, cereales, chocolate, se considera inocuo, aunque en algunos experimentos con ratas se han descrito alteraciones sanguíneas.
- Betalaínas o rojo de remolacha (E162): color rojo oscuro. Se obtiene por prensado y extracción de la remolacha. Está presente en productos de pastelería, chicle, yogur, salsas, postres. Se considera inocuo y, lo que, es más, en algunos estudios se ha constatado acción anticancerígena.
- Antocianinas (E163): colores vegetales de rojo a violeta azulado. Se obtiene por extracción de moras, fresas, grosellas, uvas, frambuesas, maíz negro, presente en bebidas, queso, confituras, helados y productos lácteos aromatizados. Sin efectos secundarios.

1.2 Fuentes de pigmentos naturales del tipo betalaínas

Los pigmentos de betabel son aditivos alimentarios que contienen betalaínas, estables a pH 3.5-7 y son identificados por el número E, por ejemplo, E162.

Las betalaínas son pigmentos nitrogenados solubles en agua, derivados del ácido betalámico y comprenden dos grupos estructurales: betacianinas y betaxantinas como lo muestra la Figura 1.1. Las betacianinas contienen un residuo de ciclo-dihidroxifenilalanina (ciclo-DOPA) y exhiben una coloración roja, en este grupo se incluyen la betanina, isobetanina y neobetanina. Por otra parte, las betaxantinas contienen diferentes cadenas laterales de aminoácidos o aminas y exhiben una coloración amarilla, incluyéndose en este grupo a la indicada xantina y vulgaxantinas I y II. Ver Figura 1.2. Las betaxantinas difieren de las betacianinas en que el núcleo aquellas es remplazado por un aminoácido (Flores et al., 2019).

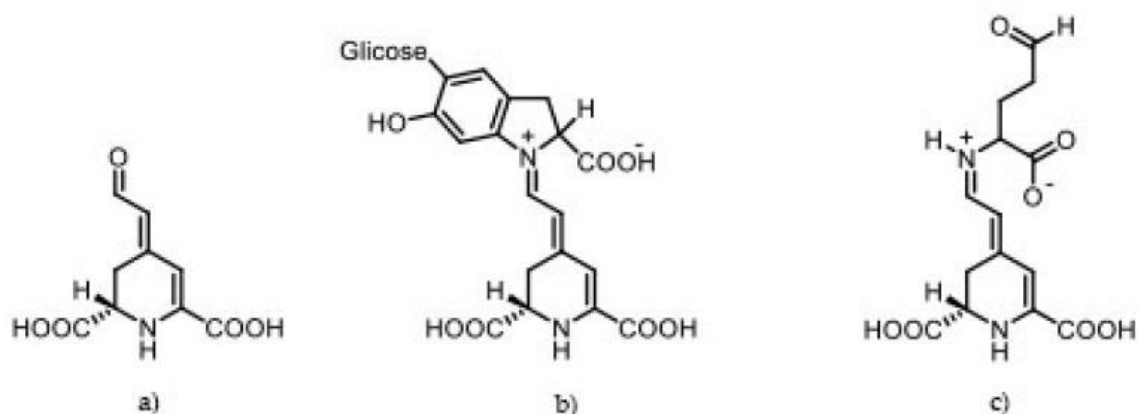


Figura 1.1 Estructura del ácido betalámico y grupos estructurales de las betalaínas. a) ácido betalámico, b) betaxantinas, c) betacianinas. Adaptado de Stintzing y Carle (2004) y Slimen et al. (2017).

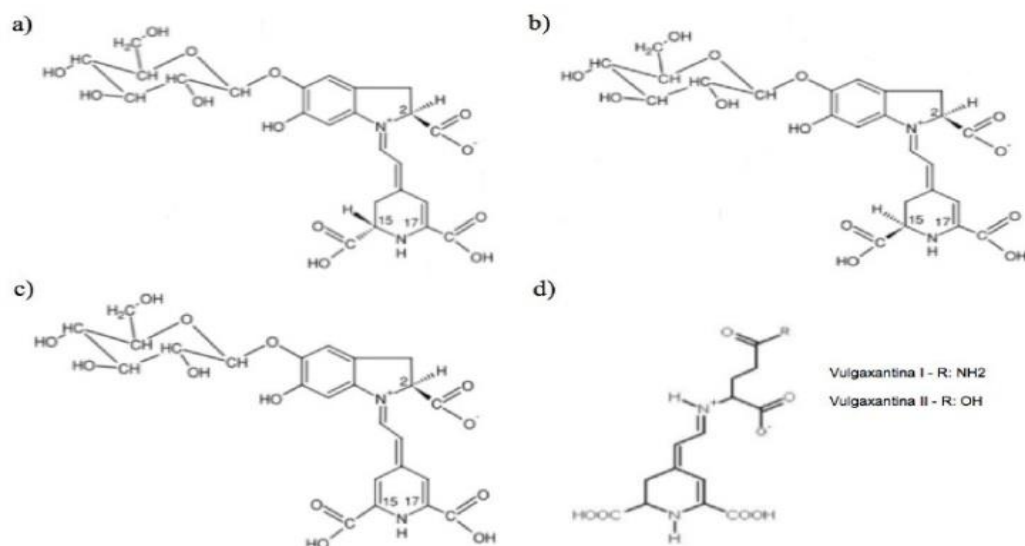


Figura 1.2 Estructura química de las betalainas presentes en *Beta vulgaris*. a: betanina, b: isobetanina, c: neobetanina, d: vulgaxantina I y II. Adaptado de Helbach et al., (2006) y Ninfali y Angelino (2013)

Las betalainas han demostrado tener actividad antiviral y antimicrobiana y puede ser usada como nutraceutico por sus potenciales beneficios a la salud (Bucur et al., 2014).

1.3 Betabel

El betabel (*Beta vulgaris*) es una hortaliza perteneciente a la familia *Amaranthaceae*. En México se le conoce como betabel; en Argentina, España y Cuba como remolacha, mientras que en Chile y Perú se le llama betarraga. Dentro de la industria alimenticia, el tubérculo suele ser utilizado en forma de polvo o como pigmento obtenido de la extracción para la elaboración de pastas, postres, salsas, mermeladas, helados, productos lácteos, galletas, cereales tipo hojuela, vino, cerveza y tortillas ya que el betabel tiene un alto contenido en vitaminas y minerales

(vitaminas A y C, hierro, potasio, entre otros). Otros componentes presentes son la fibra dietética y los antioxidantes (polifenoles y betalaínas).

El betabel es una planta bienal que es cultivada en países de clima templado, su pulpa puede presentar una coloración que va del rojo oscuro al violeta y círculos concéntricos de coloración blanquecina, estas características hacen del betabel una hortaliza fácilmente reconocible. De acuerdo con Payán, existen tres subespecies de *Beta vulgaris* que son ampliamente cultivadas para distintos propósitos. La primera es *Beta vulgaris saccharifera*, la cual es utilizada para la extracción de azúcar, por lo que se conoce como “remolacha azucarera”; la segunda es *Beta vulgaris esculenta* y es cultivada con fines forrajeros, mientras que la variedad de *Beta vulgaris hortensis* es empleada para el consumo humano y, es conocida como “remolacha de mesa”.

El betabel presenta un alto contenido en fibra (2.05 g/100 g), vitaminas A, C y folato (2 µg equivalentes de actividad del retinol (EAR)/100 g, 19.85 mg/100 g y 109 µg equivalentes dietéticos de folato (EDF)/100 g, respectivamente), así como minerales destacando el hierro y potasio (1.48 mg/100 g y 325 mg/100 g, respectivamente). Por otro lado, el betabel contiene polifenoles (255 mg EAG (equivalentes de ácido gálico) /100 g), flavonoides (260 mg ER (equivalente de rutina)/100 g), y betalaínas (4.62 mg/g), éstos últimos son responsables del color que lo caracteriza (Gómez- Gómez- Cipriano *et al.*, 2022).

La acumulación de betalaínas en la raíz de la remolacha roja está relacionada con el almacenamiento de hidratos de carbono, como elemento fisiológico en respuesta a condiciones de estrés. La intensidad de color crece con la cantidad de sales de K⁺ en el suelo.

Aunque estructuralmente está relacionado con los alcaloides, a menudo llamados como alcaloides, las betalaínas no tienen efectos tóxicos en el cuerpo humano y representan una alternativa natural a algunos aditivos de color sintéticos, que están actualmente en uso.

1.4 Factores que afectan la estabilidad de las betalaínas.

1.4.1 Temperatura

La degradación de las betalaínas depende de la temperatura y sigue una cinética de reacción de primer orden, dependiente del pH. El factor más importante en la estabilidad de las betalaínas durante el procesamiento y almacenamiento de alimentos es la temperatura. Durante los procesos térmicos las betalaínas pueden degradarse por isomerización, desglicosilación, hidrólisis, deshidrogenación y descarboxilación. La aparición de pardeamiento lleva a una reducción de color gradual, de rojo característico de estos pigmentos hasta llegar a color marrón claro.

Se ha demostrado que las betalaínas tienen mayor estabilidad a temperaturas bajas, siendo 4°C la temperatura que permite mantener la estabilidad de los compuestos betalámicos, comparado con temperaturas más altas. El ácido betalámico (amarillo brillante) y ciclodopa-5-O-glucosido (sin color) son productos resultantes de la descarboxilación de betanina durante tratamientos térmicos.

Cuando la betanina sufre deshidrogenación se genera otro compuesto betalámico, la neobetanina, observándose un cambio de color rojo a amarillo. Así mismo, el proceso térmico del jugo de betabel causa la degradación de las betalaínas dando como resultado diferentes tipos de betacianinas mono, di y tricarboxiladas. Cabe mencionar que la adición de ácido cítrico es capaz de proteger la estabilidad de las betalaínas ante factores como temperatura, luz y oxígeno (Flores et al., 2019).

1.4.2 Potencial de hidrógeno

Las betalaínas son estables en soluciones en un rango de pH de 3,0 a 6,0. Por fuera de este rango los compuestos presentan una degradación rápida que va acompañada de una pérdida de color. Bajo condiciones alcalinas la betanina se degrada a ácido betalámico y ciclodopa-5-O-glucosido. Las betacianinas se consideran con mayor estabilidad a pH ácido, mientras que las betaxantinas son más resistentes en medios neutros. El pH ideal para la estabilidad de los pigmentos del betabel en condiciones anaerobias es de 4,0-5,0 pero si las betalaínas se encuentran en un medio con presencia de oxígeno el pH óptimo sería 5,5-5,8 (Flores et al., 2019).

1.4.3 Luz

La estabilidad de las betalaínas es afectada por luz; la degradación de color es causada por la absorción de ondas UV. Sin embargo, Herbach *et al.*, (2004) señalan que la degradación de los pigmentos por la luz depende de la presencia de oxígeno, puesto que ésta no se da en condiciones anaerobias. Este tipo de degradación se puede evitar mediante la utilización de ácido ascórbico. La presencia de luz y de oxígeno tienen un efecto sinérgico. La luz causa una degradación de color del 15,6% y el oxígeno 14,6%, mientras que la combinación de ambos causa una degradación del 28,6% (Von Elbe et al., 1974). Manchali et al., (2013) mencionan que no todas las fuentes de luz generan la degradación de las betalaínas, sino que la luz de diferentes longitudes de onda puede causar un efecto aditivo de color en las betalaínas. De tal forma, Shin et al., (2003) sugieren que la luz azul en combinación con la luz infrarroja induce a una mayor acumulación de betacianinas (Flores et al., 2019).

1.4.4 Oxígeno

Las betalaínas reaccionan con el oxígeno y cuando son almacenadas en presencia de oxígeno sufren una degradación de color (Von Elbe et al., 1974; Herbach et al., 2006b, 2006c). Sin embargo, se ha demostrado que niveles bajos de oxígeno favorecen la recuperación del pigmento después de sufrir dicha degradación (Huang y Von Elbe, 1987). La eliminación de oxígeno disuelto aumenta la estabilidad de los compuestos betalámicos (Von Elbe et al., 1974). El oxígeno juega un papel crucial en la degradación de las betalaínas, y más aún si dichos compuestos se encuentran almacenados por encima de los 4°C y en presencia de luz (Flores et al., 2019).

1.4.5 Metales

Los metales son otro factor para considerar en la degradación de los pigmentos betalámicos. Cobre, hierro, aluminio y estaño afectan la estabilidad de la betanina acelerando la pérdida de su color. Para reducir la degradación de color en los pigmentos por iones metálicos, algunos autores recomiendan utilizar ácido cítrico como agente quelante (Flores et al., 2019).

1.4.6 Actividad de agua

Se ha observado una mayor estabilidad de las betalaínas cuando la actividad de agua (a_w) es $<0,63$. La a_w afecta la estabilidad de los compuestos betalámicos puesto que el agua favorece la ruptura del enlace aldimina del compuesto (Herbach et al., 2006a, b, c). Diversos autores reportan que la estabilidad de estos

compuestos aumenta cuando se aplican métodos para reducir el contenido de agua, tales como liofilización y secado por atomización, entre otros (Flores et al., 2019).

1.4.7 Actividad enzimática

Otra causa de inestabilidad de los compuestos betalámicos es la inactivación inadecuada de enzimas tales como las glucosidasas, polifenoloxidasas y peroxidasas. Las glucosidasas afectan la estabilidad de las betalaínas por la formación de agliconas, las peroxidasas forman radicales y las polifenoloxidasas oxidan principalmente los compuestos fenólicos sin color, todo esto dando como resultado la inactivación de las betalaínas y por consiguiente la decoloración de los compuestos betalámicos.

1.5 Solventes eutécticos naturales

Abott et al., (2003) definieron los disolventes eutécticos profundos como compuestos líquidos, formados por la mezcla de dos o más compuestos, cuyo punto de fusión es inferior al de los compuestos puros que lo forman.

Los disolventes eutécticos profundos (DES) se preparan mezclando donantes y aceptores de enlaces de hidrógeno en cantidades estequiométricas definidas. Se describen dos métodos de preparación, el primero por calentamiento: la mezcla se lleva a una temperatura donde ambos compuestos se funden formando un líquido homogéneo, se agita por un tiempo determinado y luego se deja enfriar a temperatura ambiente; el segundo método se basa en mezclar soluciones de los componentes realizadas en un solvente volátil como metanol o etanol, se mezclan las soluciones y se evapora el solvente quedando así la mezcla eutéctica, el método

se lleva a cabo con agitación constante y finalmente, se deja enfriar la mezcla a temperatura ambiente (Sánchez et al., 2019).

En lo referente a las propiedades de los DES hay una carencia generalizada de la caracterización de sus propiedades; dado que éstas dependen de los compuestos que los forman, deben ser estudiadas individualmente para cada DES. A pesar de ello podemos afirmar que, en general, los DES hidrofílicos, suelen ser altos, con las correspondientes desventajas que ello conlleva en la relación con la transferencia de materia, con la velocidad de reacción y con manipulación. Para solventar el problema de la viscosidad, a veces se emplean otros disolventes para reducirla; sin embargo, se debe tener cuidado con dichos disolventes ya que pueden debilitar los enlaces de hidrogeno de DES.

Dada su versatilidad, los DES se pueden emplear en un amplio rango de aplicaciones; las más comunes son, junto con procesos electroquímicos, los procesos de separación, en especial en el campo de la extracción como disolventes.

Otras aplicaciones que se han propuesto y estudiado en la literatura son como un medio de síntesis de compuestos orgánicos, síntesis de derivados de celulosa, purificación de biodiesel, procesamiento de óxidos de metal, eliminación de micro contaminantes, captura y almacenamiento de CO₂, eliminación de compuestos de nitrógeno de los combustibles, diversas aplicaciones en biotecnología y bioingeniería (Sánchez et al., 2019).

Los DES son solventes verdes si se preparan a partir de componentes provenientes de fuentes renovables como plantas, se han reportado diversos disolventes eutécticos profundos naturales (NADES, por sus siglas en inglés) preparados a partir de metabolitos como polifenoles, azúcares, terpenos, aceites vegetales entre otros.

Los solventes eutécticos naturales NADES son mezclas eutécticas de dos o tres componentes que muestran propiedades similares a los líquidos iónicos tales como puntos de fusión bajos en comparación con las especies originales, de acuerdo con la Figura 1.3, baja presión de vapor, buena conductividad iónica, estabilidad térmica, viscosidad modificable, miscibilidad y solubilidad. Además, su polaridad controlable permite aumentar la estabilidad y selectividad de los extractos y el rendimiento de la extracción, lo que aumenta más su gama de aplicaciones industriales.

De acuerdo con los requerimientos de extracción los NADES se obtienen por mezclas de 2 o más sólidos orgánicos o sustancias inorgánicas, formando una sola fase líquida (Hernández *et al.*, 2019).

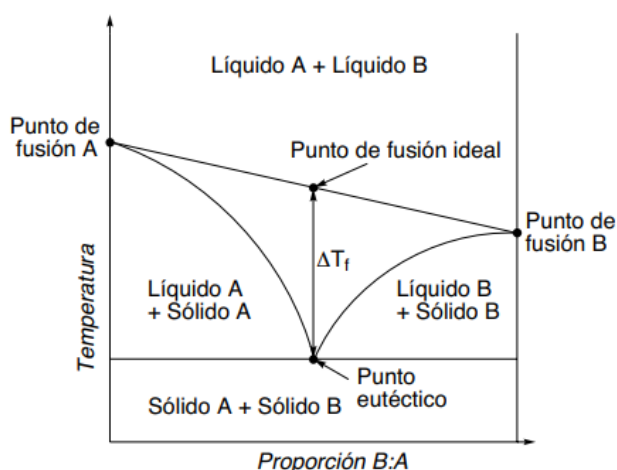


Figura 1.3 Diagrama de fase para una mezcla eutéctica

Los sistemas NADES pueden disolver productos naturales con baja solubilidad en agua y también proteger los compuestos naturales durante su almacenamiento y altas temperaturas.

Los NADES se pueden formar mezclando sales de amonio cuaternarias no tóxicas por ejemplo el cloruro de colina (ChCl) que sirve como aceptor de enlaces de hidrogeno (HBA) con compuestos donadores de enlaces de hidrogeno (HBD) de

baja toxicidad como urea, polioles, azúcares y compuestos orgánicos ácidos (Boris et al., 2022).

En algunos trabajos se han investigado sistemas NADES basados en cloruro de colina (ChCl) con ácido málico, urea y fructosa con el fin de compararlos con métodos para su preparación basados en calentamiento y agitación (H&S) y preparación asistida por US y MW, con el objetivos de determinar y comparar las actividades antioxidantes y antimicrobianas de cada sistema basado en NADES para seleccionar la formulación más activa como producto potencial listo para usar, aditivo alimentario o preparación farmacéutica .

Dado que no todos los enlaces son totalmente iónicos ni totalmente covalentes, sino que están entre los dos extremos; a tales enlaces se les conoce como enlaces covalentes polares, lo que significa que los electrones de enlace son más fuertemente atraídos por un átomo que por el otro, lo que lleva a que la distribución electrónica entre los átomos sea asimétrica como se observa en la Figura 1.4

Carácter iónico

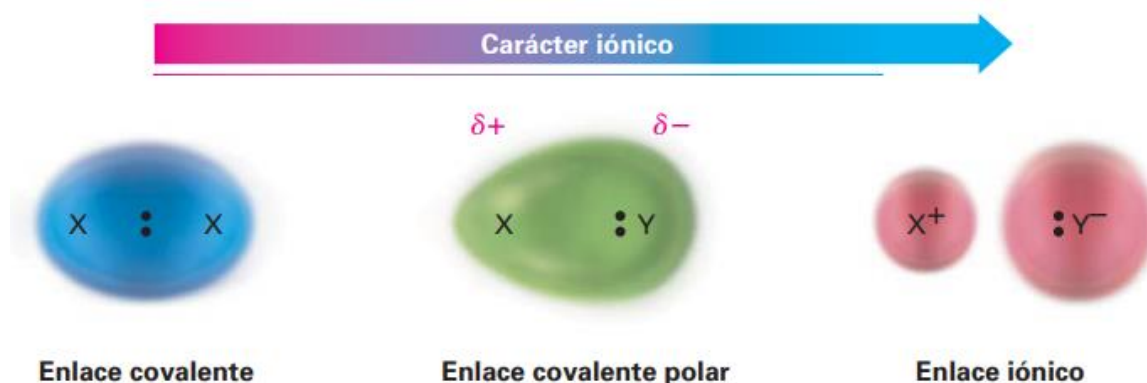


Figura 1.4 Carácter iónico de un reactivo

Para el cálculo de la polaridad molecular neta, para cada reactivo se realizara la suma vectorial de todas las polaridades de los enlaces individuales y el aporte de

electrones no enlazados en la molécula, como se observa en la Figura 1.5 Ejemplo de la polaridad molecular neta de la Glucosa.

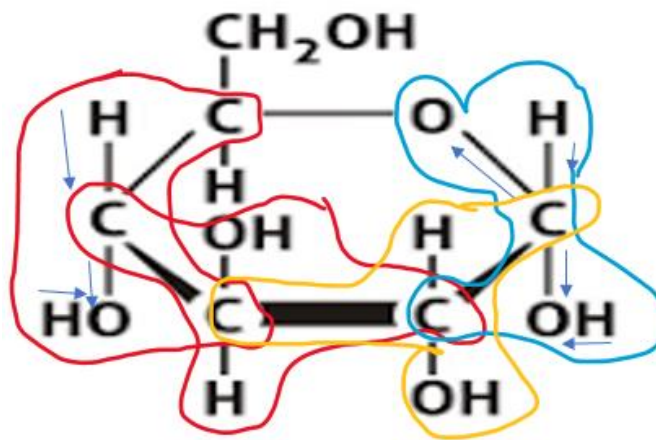


Figura 1.5 Ejemplo de la polaridad molecular neta de la Glucosa

2. MÉTODO

Para el cumplimiento de los objetivos propuestos en esta investigación se plantean 5 etapas metodológicas. En la figura 2.1 se muestra cada una de las etapas mencionadas:

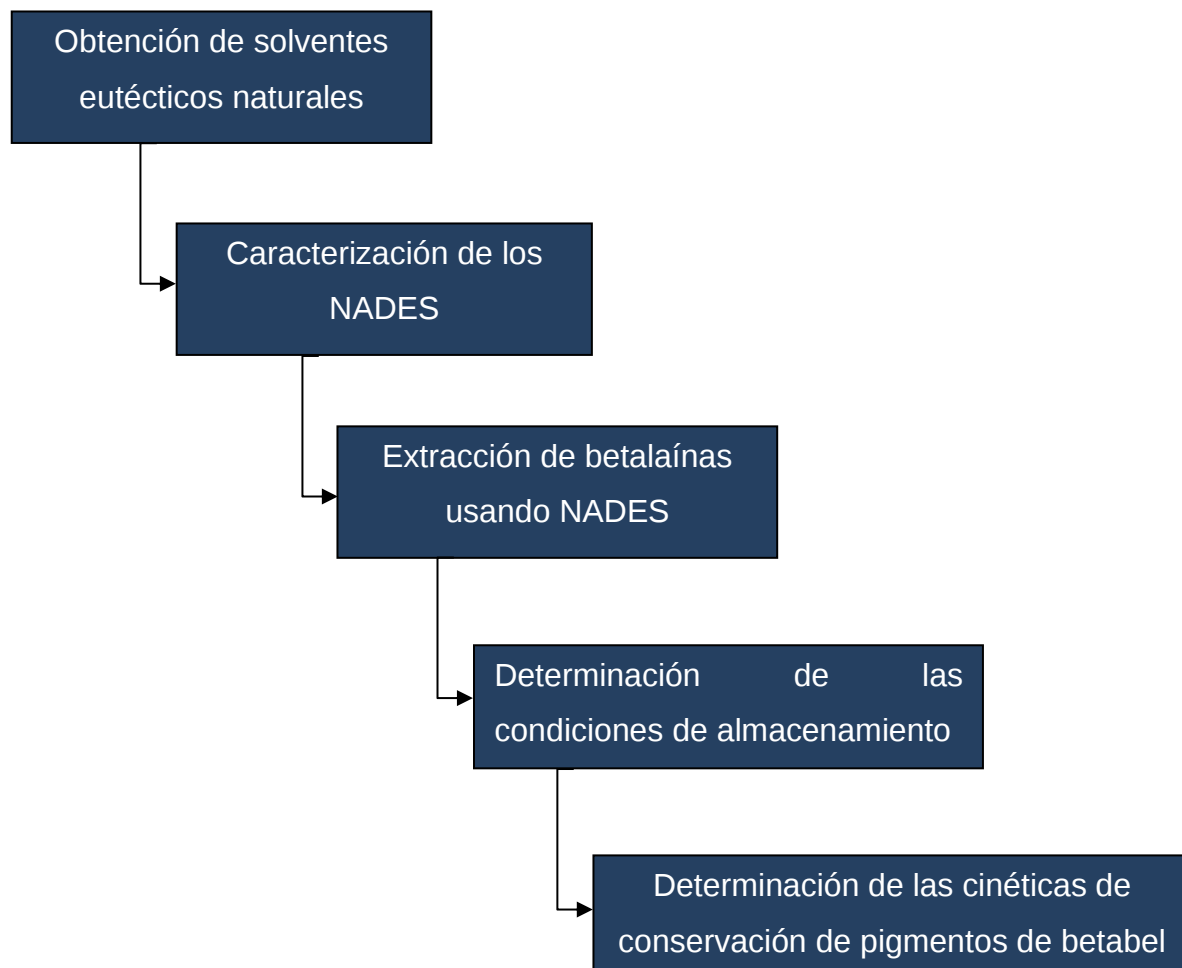


Figura 2.1 Diagrama de flujo del método para la obtención de betalaínas

2.1 Obtención de solventes eutécticos naturales

a) Síntesis de los NADES

Se sintetizaron los NADES mencionados en la Tabla 2.1 Lista de NADES sintetizados.

Tabla 2.1 Lista de NADES sintetizados

Número NADES	Reactivo 1	Reactivo 2	Reactivo 3	Proporción
1	Glucosa	Glicerol	Ácido Láctico	1: 2: 5
2	Etilenglicol	Glicerol	Ácido Acético	1: 1: 1
3	Cloruro de colina	Ácido Cítrico	Agua desionizada	2: 1: 30%
4	Cloruro de colina	Ácido Cítrico	Agua desionizada	1: 2: 30%
5	Cloruro de colina	Urea	Agua desionizada	2:1: 30%
6	Cloruro de colina	Urea	Agua desionizada	1: 2: 40%
7	Cloruro de colina	Ácido Láctico	Agua desionizada	2:1: 10%
8	Cloruro de colina	Ácido Láctico	Agua desionizada	1: 2: 10%
9	Ácido Cítrico	Glicerol	Agua desionizada	1: 3: 10%

Para el caso de las proporciones molares 2:1, se pesaron 60g del reactivo A y 30g del reactivo B en un vidrio de reloj, para proporción molar 1:2 se pesaron 30 g del reactivo A y 60g del reactivo B. Se usó la Balanza Analítica «Sartorius» M-Power AZ-214. Se verificó que la calibración de la balanza se encuentre vigente.

Se colocaron los reactivos pesados A y B, en un matraz tapado de 250 mL para cada NADES, se instaló el matraz en una placa de calentamiento, con agitación magnética a 400rpm y temperatura controlada entre 20 y 70°C hasta obtener un líquido cristalino y homogéneo, por un tiempo aproximado 2 horas. Posteriormente se colocó en un recipiente de vidrio se tapó y almacenó para su uso posterior.

Tomar como referencia la Figura 2.2 Imagen ilustrativa de la formación de un NADES.

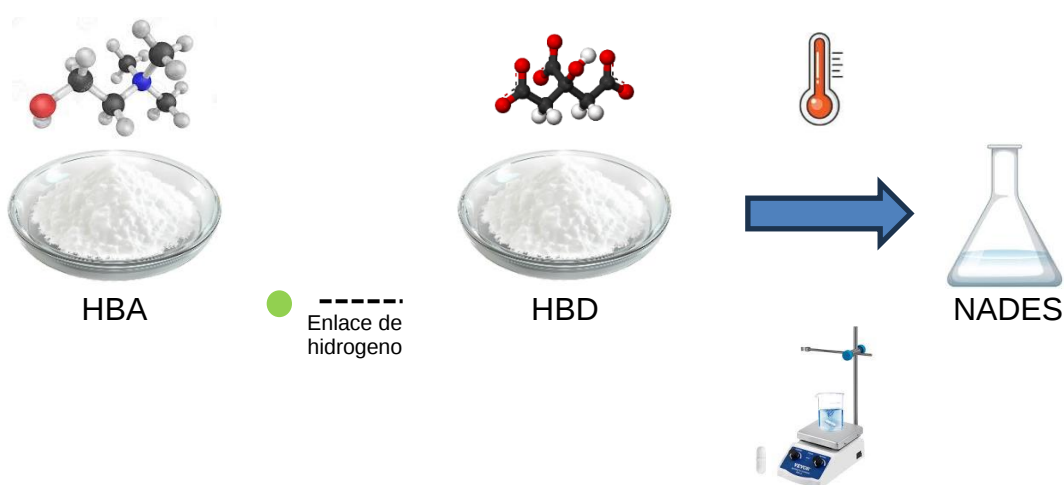


Figura 2.2 Imagen ilustrativa de la formación de un NADES

2.2 Caracterización de los solventes eutécticos naturales (NADES)

Una vez sintetizado cada NADES, se procedió a determinar las características fisicoquímicas usando las siguientes metodologías:

a) Determinación de punto de fusión. Durante el proceso de obtención de cada NADES, se tomó la temperatura con un termómetro de inmersión marca Brannan LO-tox™ con un rango de temperatura de -20°C a 150°C de manera constante y al observar que se obtiene una solución con apariencia cristalina y homogénea, se registró la temperatura y se determinó a ese dato como punto de fusión del NADES.

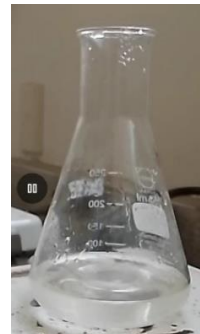
Figura 2.3 a), b) y c) Representación gráfica de la síntesis de un NADES.



a) Inicio de la síntesis



b) Interfase: Se tiene líquido A+ sólido A y líquido B + sólido B



c) Líquido completamente homogéneo y cristalino

Figura 2.3 a), b) y c) Representación gráfica de la síntesis de un NADES

b) Densidad: Para el cálculo de la densidad experimental a 25°C de cada NADES se usó un picnómetro marca Difte, clase A con capacidad de 10 mL.

Antes de realizar la medición de la densidad de los NADES, se calibró el picnómetro, para ello se pesó el picnómetro vacío, posterior se llenó con agua desionizada y se pesó nuevamente, verificando que el capilar se encontrara completamente lleno y sin burbujas atrapadas.

Se usó la siguiente ecuación para calcular el volumen real del picnómetro.

$$V = \frac{m_2 - m_1}{\rho_1 - \rho_2} \dots \text{ec. 1}$$

Donde:

V = volumen real del picnómetro

m_1 = masa del picnómetro vacío

m_2 = masa del picnómetro con agua ionizada

ρ_1 = densidad del aire a 25 °C.

ρ_2 = densidad del agua a 25 °C.

Se atemperaron las muestras a 25°C. Se pesó el picnómetro primero vacío y después, lleno del líquido que se está investigando. La diferencia (es decir, la masa de la muestra) dividida entre el volumen del picnómetro es la densidad de la muestra, como lo indica la ecuación 2.

$$\rho = \frac{m_3}{m_1} \dots \text{ec. 2}$$

Siendo:

ρ = Densidad del solvente eutéctico natural profundo a 25°C

m_3 = peso del picnómetro con el solvente eutéctico natural profundo

m_1 = peso del picnómetro vacío

V = volumen real del picnómetro

Se consideró que no deben quedar burbujas de aire atrapadas



Figura 2.4 Medición de la densidad con picnómetro

c) Viscosidad: Para la medición de la viscosidad (CPS) se usó el viscosímetro rotacional Brookfield modelo DV-E de acuerdo con la Figura 2.4, con chaqueta de calentamiento con un rango de temperatura de 25°C $\pm$ 2°C, % de torque entre 15 a 60, con una aguja S18.



Figura 2.6 Conductímetro Hanna 5522

Antes de realizar la medición de conductividad, se verificó que el equipo se encontraba calibrado, en caso de no cumplir, se procedió a realizar dicha calibración.

Se introdujo el electrodo en cada una de las muestras, esperar a que se estabilice la medición, el equipo indicará cuando esto suceda, posterior a ello se tomó la lectura. Se realizó la limpieza exhaustiva del electrodo entre cada muestra con agua desionizada.

Para la determinación del pH, se realizó la calibración del equipo en 3 puntos: 4, 7 y 10, con la finalidad de asegurar que las mediciones serían confiables.

Se inició con las mediciones, para ello se introdujo el electrodo en la muestra y verificó que el sensor se encontrara completamente sumergido. Se esperó a que se estabilizará la medición, el equipo indicaría cuando esto sucediera posterior a ello se tomó la lectura.

Se realizó la limpieza exhaustiva del electrodo entre cada muestra con agua desionizada.

e) Polaridad: Se calculó la polaridad molecular neta por una cantidad denominada momento dipolar

f) Solubilidad Como regla general de la solubilidad, un compuesto es soluble en agua cuando por lo menos 0.1g de este se solubiliza en 100 mL de disolvente (agua).

Una sustancia se considera insoluble cuando su solubilidad es inferior a 0.1 g por 100 mL de disolvente.

Para determinar la solubilidad de cada NADES, se pesó 0.1g de cada solvente, mismo que al que se le agregó 100 mL de agua desionizada. Posteriormente se agitó y determinó visualmente si la mezcla eutéctica se solubilizó, esto es cuando se mantiene la apariencia homogénea y cristalina del NADES.

g) Espectrometría IR

Los grupos funcionales de los 9 NADES fueron analizados mediante la metodología FTIR (Hernández-Roldán et al., 2021).

2.3 Extracción de betalainas usando NADES

El proceso de extracción y obtención de betalainas se llevó a cabo probando el uso de la materia prima en estado líquido, así como en estado sólido. Para ambos casos se siguió una adaptación de la metodología reportada por Hernández-Aguirre *et al.* (2021), misma que se describe continuación:

2.3.1 Preparación de la materia prima

Para el caso de la materia prima en estado líquido se utilizó un extractor para jugos, cuyas partes principales son de plástico, y el principio es por extrusión, ver figura 2.7 Obtención del extracto

Se introdujo betabel congelado previamente por la parte superior del extractor, para obtener en la primera salida la fibra del betabel seco, y por la otra salida el “jugo” que llamaremos en este trabajo: extracto.

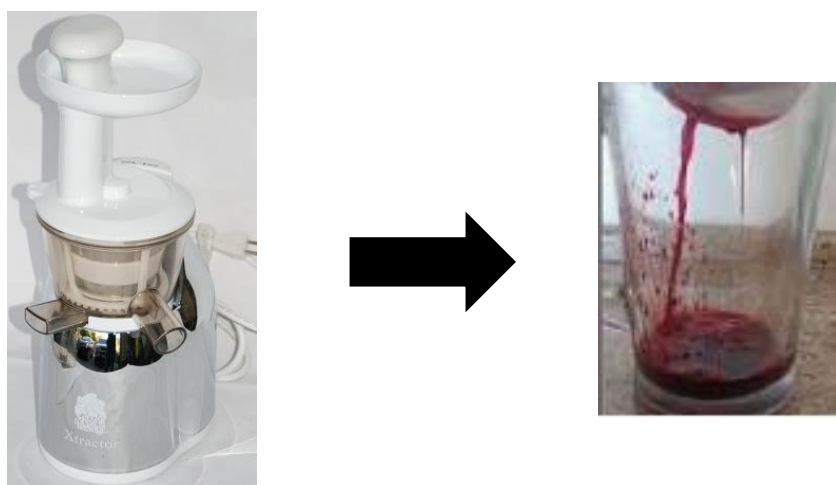


Figura 2.7 Obtención del extracto

Se mezclaron los 9 NADES con el extracto en una proporción de 3 ml de cada NADES con 3 ml de extracto.

Para el caso del material seco, se procedió a secar betabel fresco, liofilizado en condiciones óptimas con el equipo de la Figura 2.8 Liofilizadora MARCA LABCONCO.



Figura 2.8 Liofilizadora MARCA LABCONCO

Una vez seco el material, se procedió a triturar de manera manual con un mortero de porcelana y posteriormente tamizar, hasta tener un tamaño de partícula de $106\mu\text{m}$ como se muestra en la Figura 2.9 Polvo de betabel



Figura 2.9 Polvo de betabel liofilizado

Se mezclaron 10 mg de betabel seco con 4 ml de cada NADES sintetizado

2.3.2 Extracción

Una vez realizadas las mezclas de NADES con material seco y extracto, se colocaron los tubos de ensayo con agitación en Vortex por 60 segundos, a continuación, se aplicó extracción asistida por medio de ultrasonido por 40 minutos a temperatura ambiente y se centrifugó durante 15 minutos a 50 rpm.

Posteriormente, se realizó la separación sólido-líquido por medio de la filtración de la masa (filtro 11 µm).

Se realizó el mismo procedimiento con el blanco, usando como solvente agua desionizada misma muestra que servirá como referencia.

Se dosificó y etiquetó para su medición y almacenamiento.

2.3.3 Caracterización del contenido y tipo de betalaínas extraídas.

Los extractos se caracterizaron según el contenido total de betalaínas (mg/g). A partir de su espectro de luz visible, se identificarán como betalaínas.

La coloración de betalaínas se midió en un equipo PerkinElmer Lambda 25 UV-Vis (Waltham, MA, EE. UU.), ver Figura 2.10 Mediciones con UV-VIS considerando betaxantinas y betacianinas como estructuras principales en extractos de betalaínas, así como utilizando la ecuación (1):

$$\text{Contenido total de betalaínas (mg / mL)} = \frac{A \times DF \times MW \times V \times 1000}{\epsilon \text{ (L)}} \quad (1)$$

Donde:

A = es el valor de absorbancia del extracto a 535 nm para la betacianinas y a 480 nm para betaxantinas.

DF= Factor de dilución del extracto

L= Longitud del recorrido de la cubeta (cm).

MW= Peso molecular de la betacianinas, 550 g·mol y 308 g·mol del betaxano diluido.

ϵ = Los coeficientes de extinción de la betacianinas $60.000 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ y $48.000 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ para betaxantinas fueron relativas a ϵ .

V= Volumen

Se utilizó un factor de conversión de 1000 para convertir g en mg. Lo anterior de acuerdo con (Hernández-Aguirre et al., 2021).

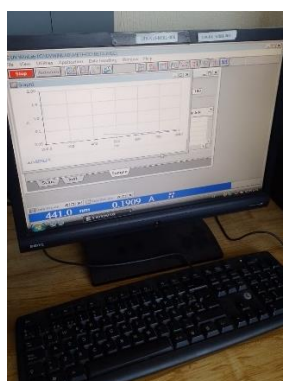


Figura 2.10 Mediciones con UV-VIS

2.4 Determinación de las condiciones de almacenamiento.

Los extractos obtenidos fueron almacenados y tapados con la finalidad de evitar el contacto con la luz y oxígeno ambiental.

Como variable de almacenamiento se considera la temperatura, ya que las muestras fueron sometidas a dos diferentes temperaturas de almacenamiento: Temperatura ambiental 25°C y temperatura de refrigeración a 4°C

2.5 Determinación de las cinéticas de conservación de pigmentos de betabel

Se realizó el análisis de estabilización de extractos de betalaínas por medio del comportamiento cinético, monitorizando el contenido total de betalaínas en el tiempo cero (control) 60 y 120 días de almacenamiento del extracto. La degradación se midió en extractos expuestos a condiciones ambientales de luz visible, temperatura ambiental (4 °C).

Se determinó la degradación de los extractos de betalaínas de acuerdo con la Ecuación (2), expresando un modelo cinético de primer orden, la solución de la ecuación (2) se expresa con la ecuación (3) donde Kb es la constante de tasa de degradación de las betalaínas, BCt son las betalaínas concentradas en un tiempo definido, BC0 es la concentración de las betalaínas en el tiempo cero y t es el tiempo de la prueba.

$$-\frac{dB_c}{dt} = K_b B_C \quad (2)$$

$$\ln \left(\frac{B_{ct}}{B_{C0}} \right) = K_b t \quad (3)$$

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Síntesis de NADES

Se presentan a continuación las composiciones de mezclas eutécticas naturales (NADES) propuestas y que se sintetizaron con la finalidad de observar su comportamiento y con base en ello definir los NADES que se usaran para la extracción de betalaínas.

Así mismo determinar que NADES se caracterizaran para predecir su comportamiento.

NADES 1: Glucosa: glicerol: ácido láctico (proporción molar 1:2: 5)

NADES 2: Monoetilenglicol: Glicerol: ácido láctico (1: 1: 1)

NADES 3: Cloruro de colina: ácido cítrico (proporción 2: 1: 30% agua)

NADES 4: Cloruro de colina: ácido cítrico (proporción 1: 2: 30% agua)

NADES 5: Cloruro de colina: urea (proporción 2: 1: 30% agua)

NADES 6: Cloruro de colina: urea (proporción 1: 2: 40% agua)

NADES 7: Cloruro de colina: ácido láctico (proporción 2: 1: 10% agua)

NADES 8: Cloruro de colina: ácido láctico (proporción 1: 2: 10% agua)

NADES 9: Ácido cítrico: Glicerol (proporción 1:3: 10%)

NADES 10: Ácido cítrico, sorbitol (proporción 2:1:20% agua)

NADES 11: Ac. Acético-Sorbitol (proporción 1:2: 20% agua)

NADES 12: Ac. Cítrico-Sorbitol (proporción 1:1: 20% agua)

NADES 13: Ac. Tartárico-Sorbitol (proporción 20% agua)

NADES 14: Ac. Acético-Sorbitol (proporción 3: 2: 20% agua)

NADES 15: Ac. Cítrico-Sorbitol (proporción 2:1: 20% agua)

NADES 16: Ac. Cítrico-Sorbitol (proporción 1:2: 10% agua)

NADES 17: Ac. Acético-Sorbitol (proporción 1:1)

NADES 18: Ac. Cítrico-Glucosa (proporción 1:1)

NADES 19: Urea-Ac. Ascórbico-Glicerol (proporción 1:1:3)

NADES 20: Urea-Dextrosa-Agua (proporción 1:1:0.5)

A la temperatura de 25°C los NADES que contienen sorbitol 10 al 17 se observó una viscosidad muy alta, es difícil su manipulación como se observa en la Figura 3.1 Ejemplo de NADES con apariencia altamente viscosa, por lo que se determinó no compatible con el proyecto de extracción de betalaínas.



Figura 3.1 Ejemplo de NADES con apariencia viscosa

Para el caso de los NADES 19 y NADES 20 se obtuvo una mezcla eutéctica a temperatura mayor a los 45°C, sin embargo, al ir disminuyendo dicha temperatura se observó la formación de cristales, como se observa en la Figura 3.2 Ejemplo de formación de cristales en NADES. Es posible el uso de dichas mezclas en otras moléculas que no presenten degradación a temperaturas mayores a 40°C. Por lo anterior estos NADES fueron descartados para su uso en la extracción de betalaínas.



Figura 3.2 Ejemplo de formación de cristales en NADES

Con respecto al NADES 18, que bajo las condiciones indicadas en el método de obtención del NADES muestra una tonalidad marrón- amarilla debido a la reacción química generada por el aumento de la temperatura y el tiempo expuesto a dicha temperatura que produce la descomposición del ácido cítrico en otros compuestos.

Como se visualiza en la Figura 3.3 NADES 18 coloración marrón- amarilla. Debido a esta inestabilidad se descartó para caracterizar y extraer las betalaínas.

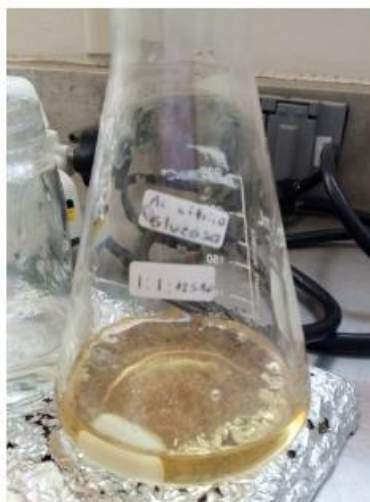


Figura 3.3 NADES 18 coloración marrón- amarilla

Por otro lado, los NADES 3 al 8 formados por cloruro de colina (ChCl) que es una sal de amonio cuaternaria considerada no toxica y cuya función fue ser aceptor de enlaces de hidrogeno (HBA) con compuestos donadores de enlaces de hidrogeno (HBD) de baja toxicidad como urea, ácidos láctico y cítrico (Boris *et al.*, 2022), adicionados con porcentajes bajos de agua, mostraron visualmente una viscosidad baja y por lo tanto la manipulación fue sencilla. Estos NADES se consideraron para caracterizar y comprobar sus propiedades como los indica la Tabla 3.1 Resultados de la caracterización de los NADES. Aunado a lo anterior el cloruro de colina se ha considerado en artículos recientes como eficiente al momento de extraer moléculas bioactivas de fuentes naturales, por lo que se decidió continuar con estos para comprobar su efectividad en la extracción de betalainas.



Figura 3.4 NADES 1- 9 seleccionados para la extracción de betalainas

3.2 Caracterización de los NADES

3.2.1 Características fisicoquímicas de los NADES

Una vez seleccionados los NADES que por sus propiedades y comportamiento se consideraron los más adecuados se procedió a caracterizar de acuerdo con lo indicado en el punto 2. MÉTODO

En la Tabla 3.1 “Resultados de la caracterización de los NADES” se muestran los resultados obtenidos

En la Tabla 3.1 Resultados de la caracterización de los NADES

NADES a 25 °C											
Número NADES	Reactivo 1	Reactivo 2	Reactivo 3	Proporción	Punto de fusión	Densidad (g/cm ³)	Viscosidad (Cp.)	Conductividad (μS/cm)	pH	Polaridad	Solubilidad
1	Glucosa	Glicerol	Ácido Láctico	1: 2: 5	47°C	1.27	258.40	6.30	1.13	25.4	Soluble
2	Etilenglicol	Glicerol	Ácido Acético	1: 1: 1	25 °C	1.15	29.27	5.50	1.63	16.2	Soluble
3	Cloruro de colina	Ácido Cítrico	Agua desionizada	2: 1: 30%	68 °C	1.19	46.10	14.61	0.51	10.9	Soluble
4	Cloruro de colina	Ácido Cítrico	Agua desionizada	1: 2: 30%	68 °C	1.27	76.20	4.76	0.27	10.9	Soluble

En la Tabla 3.1 Resultados de la caracterización de los NADES (*Continuación*)

NADES a 25 °C											
Número NADES	Reactivo 1	Reactivo 2	Reactivo 3	Proporción	Punto de fusión	Densidad (g/cm ³)	Viscosidad (Cp.)	Conductividad (μS/cm)	pH	Polaridad	Solubilidad
5	Cloruro de colina	Urea	Agua desionizada	2:1: 30%	58 °C	1.13	9.93	40.22	8.61	3.2	Soluble
6	Cloruro de colina	Urea	Agua desionizada	1: 2: 40%	54 °C	1.16	4.62	38.27	8.29	3.2	Soluble
7	Cloruro de colina	Ácido Láctico	Agua desionizada	2:1: 10%	65 °C	1.14	81.90	7.88	1.25	6.45	Soluble
8	Cloruro de colina	Ácido Láctico	Agua desionizada	1: 2: 10%	61 °C	1.17	24.81	6.11	0.30	6.45	Soluble
9	Ácido Cítrico	Glicerol	Agua desionizada	1: 3: 10%	30°	1.29	241.90	33.01	1.38	17.65	Soluble

La figura 3 muestra los NADES sintetizados del 1 al 9, que presentan un color transparente y un estado líquido. No cristalizaron a temperatura ambiente, observándose un estado líquido durante su estudio y aplicación, debido a que la atracción electrostática entre iones de carga opuesta es la fuerza principal que mantiene unidos los NADES

Referente al punto de fusión se observa que todos los NADES fusionan a temperaturas menores de 70°C tal como lo indica Sanchez-Bragagnolo *et. al* 2024 para este tipo de reactivos.

Como se observa en la Tabla 3.1, se tiene solventes eutécticos naturales ácidos NADES 1-4 y NADES 7-9 y solventes eutécticos naturales alcalinos NADES 5 y 6, se probarán ambos para determinar a que tipo de NADES tienen una mejor capacidad extractora.

Dado que la conductividad eléctrica es una medida de la capacidad de un material para transportar corriente eléctrica. En los solventes, incluidos los NADES, la conductividad puede estar influenciada por la presencia de iones disueltos, así como por la movilidad de las moléculas cargadas o polares en el solvente.

Posteriormente, los NADES 7 (ChCl-LA-H₂O, 1:3:3), 3 (ChCl-CA-H₂O, 3:1:10) y 4 (ChCl-CA-H₂O, 1:2:7) también mostraron una alta viscosidad, lo que revela una fuerte atracción entre los componentes HBD y HBA; sin embargo, la presencia de agua proporcionó interacciones más débiles que en los NADES 1 y 9. A su vez, la presencia de agua o AcA en los NADES 8 y 2, respectivamente, exhibió la estructura más débil, debido a que los enlaces de hidrógeno de LA y H₂O predominaron en la mezcla, lo que resultó en una baja viscosidad; mientras que los NADES 5 y 6 (ChCl-U-H₂O) exhibieron la menor viscosidad, debido a la presencia de U y H₂O, lo que indica una menor atracción entre los componentes.

Conductividad de los NADES. Esta propiedad reveló que la mezcla de NADES con alta viscosidad presentaba baja conductividad, ya que la viscosidad dificulta el movimiento de los iones en la solución, mientras que los NADES con baja viscosidad facilitan dicho movimiento.

El comportamiento de baja conductividad de los NADES se observó en los números 1, 9 y 7, mientras que la mayor conductividad se encontró en los NADES 2-6; la diferencia en la conductividad se asoció a los componentes y proporciones.

Una investigación previa de Grishina et al., (2017) reportó que la conductividad del ChCl con diferentes proporciones de agua (20-40% en peso) presentaba un rango de 15-40 mS/cm, comparable con los NADES 3 y 4, que contienen componentes similares.

Densidad de los NADES. La Tabla 3.1 muestra que los NADES tienen un rango de 1,1-1,3 g/cm³. Específicamente, los NADES 1, 2, 3, 4, 8 y 9, compuestos por GLY o ChCl con CA y LA como HBD, presentaron la mayor densidad, la cual se atribuyó a la acción tanto de HBD como de HBA, exhibiendo una alta atracción e interacciones que reducen la distancia total entre los átomos y el volumen ocupado en la mezcla, causando una alta densidad. Cabe destacar que el agua en el NADES 3 no disminuyó la densidad, ya que también formaba parte del NADES, interactuando como HBD. Sin embargo, los NADES 4, 5-8 mostraron las densidades más bajas, lo que podría indicar interacciones débiles y un mayor espacio entre los componentes de la mezcla, debido a la presencia de agua.

Shafie *et al.*, (2019) investigaron la densidad de proporciones de ChCl de 1:3 y 3:1, detectando la mayor densidad en 1:3 (3,1 g/cm³), mientras que 3:1 presentó 2,64 g/cm³, lo que confirma que las grandes interacciones del HBD (CA) en 1:3 producen una alta densidad, debido a la presencia de espacios libres (volumen) entre los componentes. Sin embargo, los valores de Shafie *et al.*, (2019) fueron los más altos en comparación con los NADES 3 y 4, que contienen proporciones de ChCl-CA-

H₂O de 3:1:10 (1,3 g/cm³) y 1:2:7 (1,2 g/cm³), ya que contienen la mayor proporción molar de HBD, lo que resulta en la menor densidad.

Los informes previos sobre las propiedades fisicoquímicas de los NADES muestran información diversa, dado que los NADES dependen de su estructura química. Por ejemplo, Alyammahi et al., (2023) midieron la viscosidad de ChCl-CA-H₂O con una proporción molar de 1:1:1, obteniendo una viscosidad de 81,4 mPa·s, la más alta en comparación con los NADES 3 y 4 de este informe, debido a la diferencia en la proporción molar.

Anteriormente, Shafie et al. [22] informaron sobre la viscosidad de ChCl-CA (3:1 y 1:3), obteniendo valores de 35,8 y 1742,7 Pa·s, respectivamente; por lo tanto, estos valores de viscosidad son muy elevados y no se comparan con los NADES 3 y 4 (ChCl-CA-H₂O) de este estudio. La diferencia podría justificarse por la distinta proporción molar, y porque el agua presente podría generar interacciones débiles, contribuyendo a los bajos valores de viscosidad. Sin embargo, en este caso, se ha establecido desde hace tiempo que la mayor viscosidad se obtiene con una proporción molar de 1:3, debido a la mayor cantidad de grupos hidroxilo provenientes del CA.

3.2.2 Estructura química de los NADES

En la Fig. 3.5, 3.6, 3.7 y 3.8 se muestran los resultados de los grupos funcionales encontrados en el FT-IR.

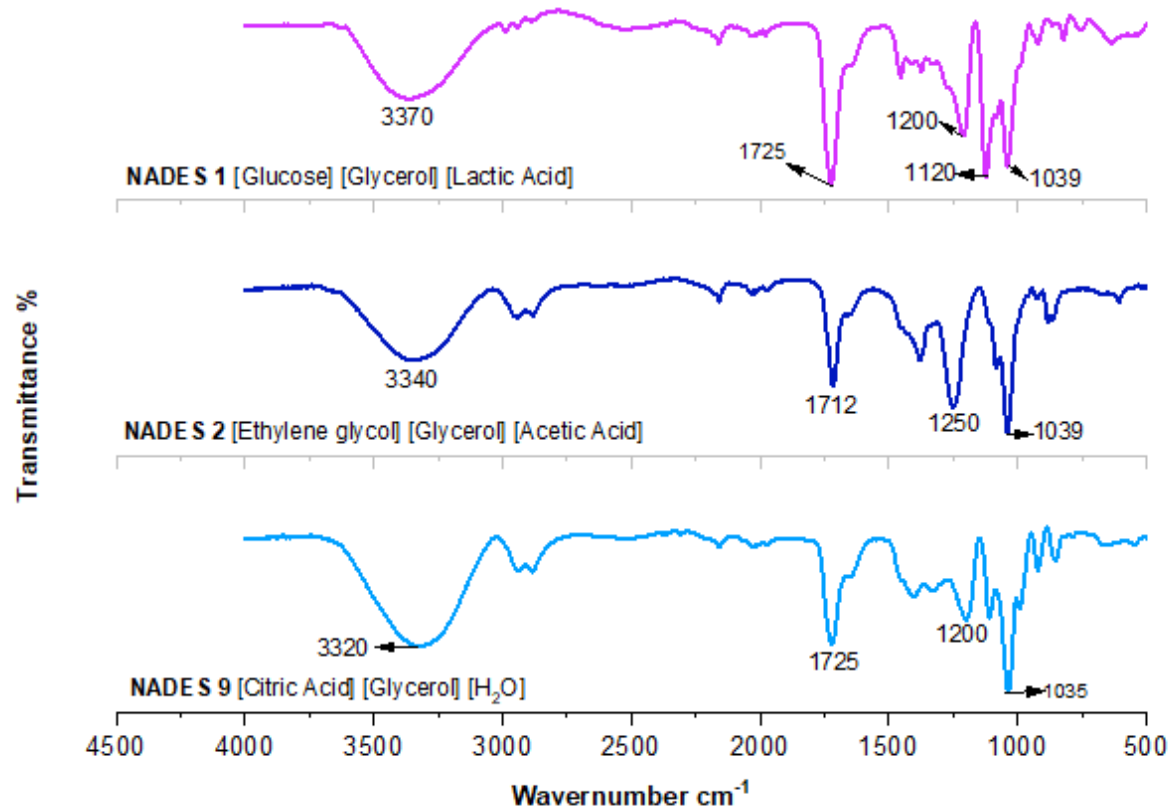


Fig. 3.5 Espectro FR-IR de los NADES 1, NADES 2 y NADES 9

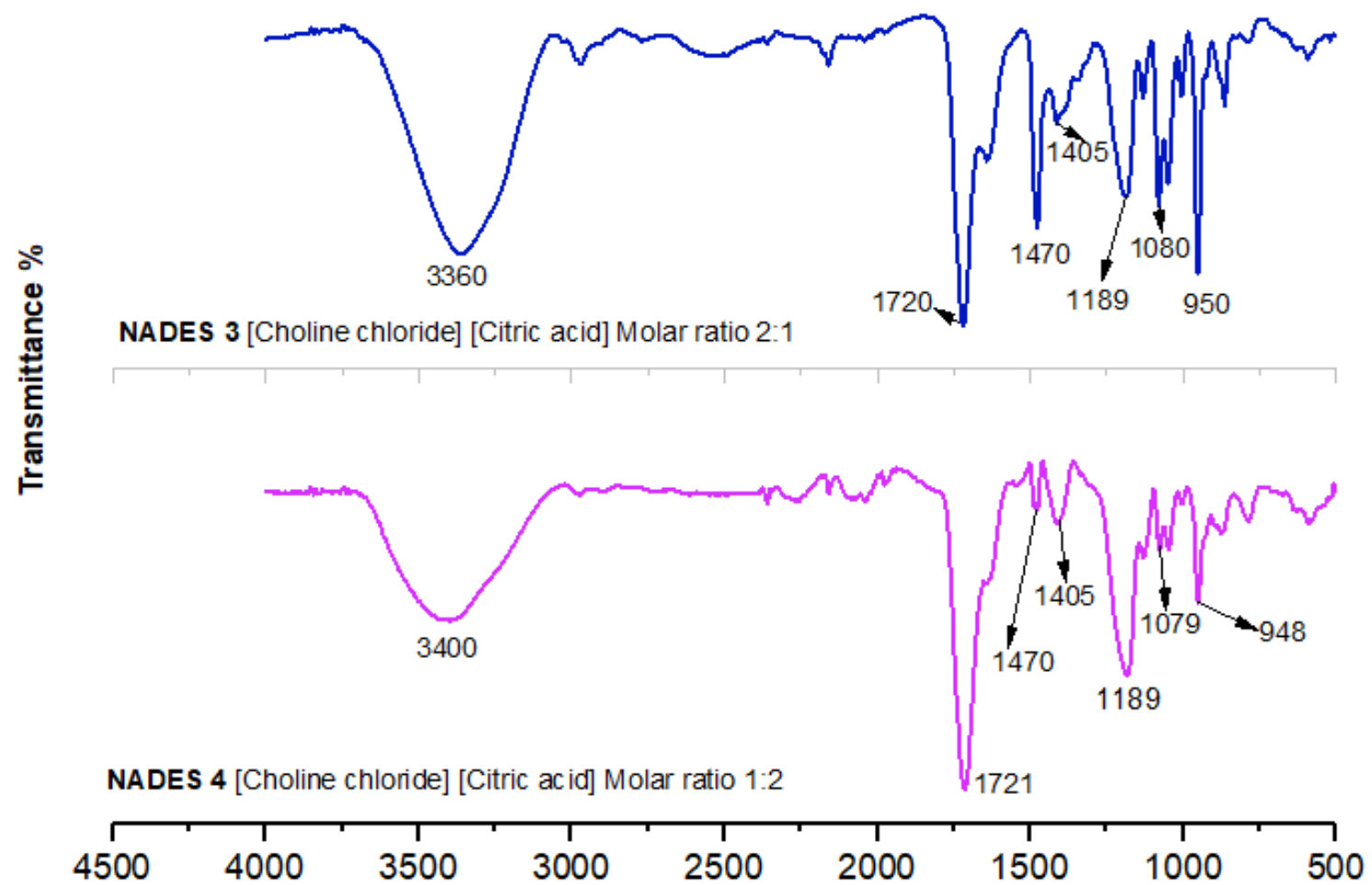


Fig. 3.6 Espectro FR-IR de los NADES 3 y NADES 4

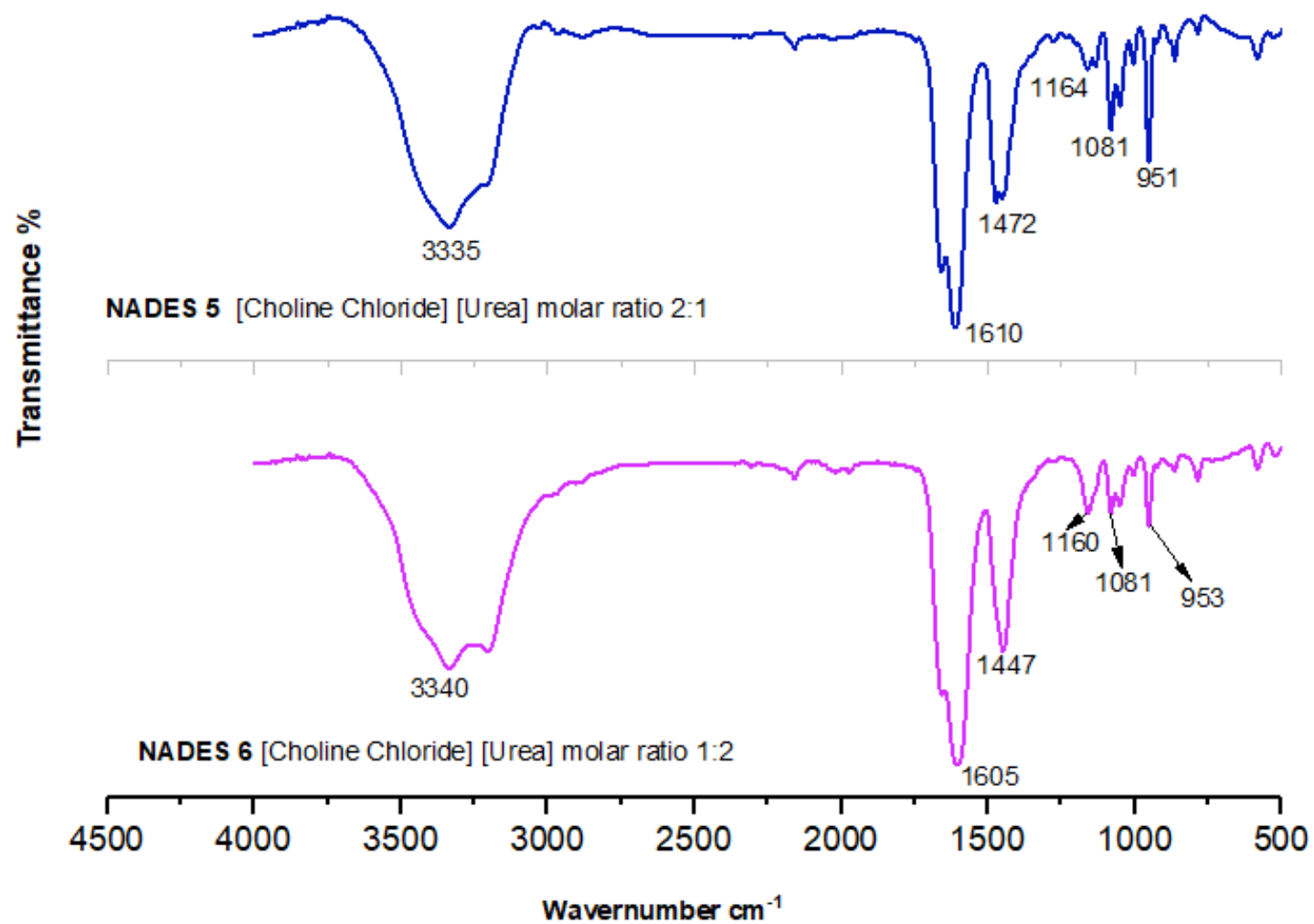


Fig. 3.7 Espectro FR-IR de los NADES 5 y NADES 6

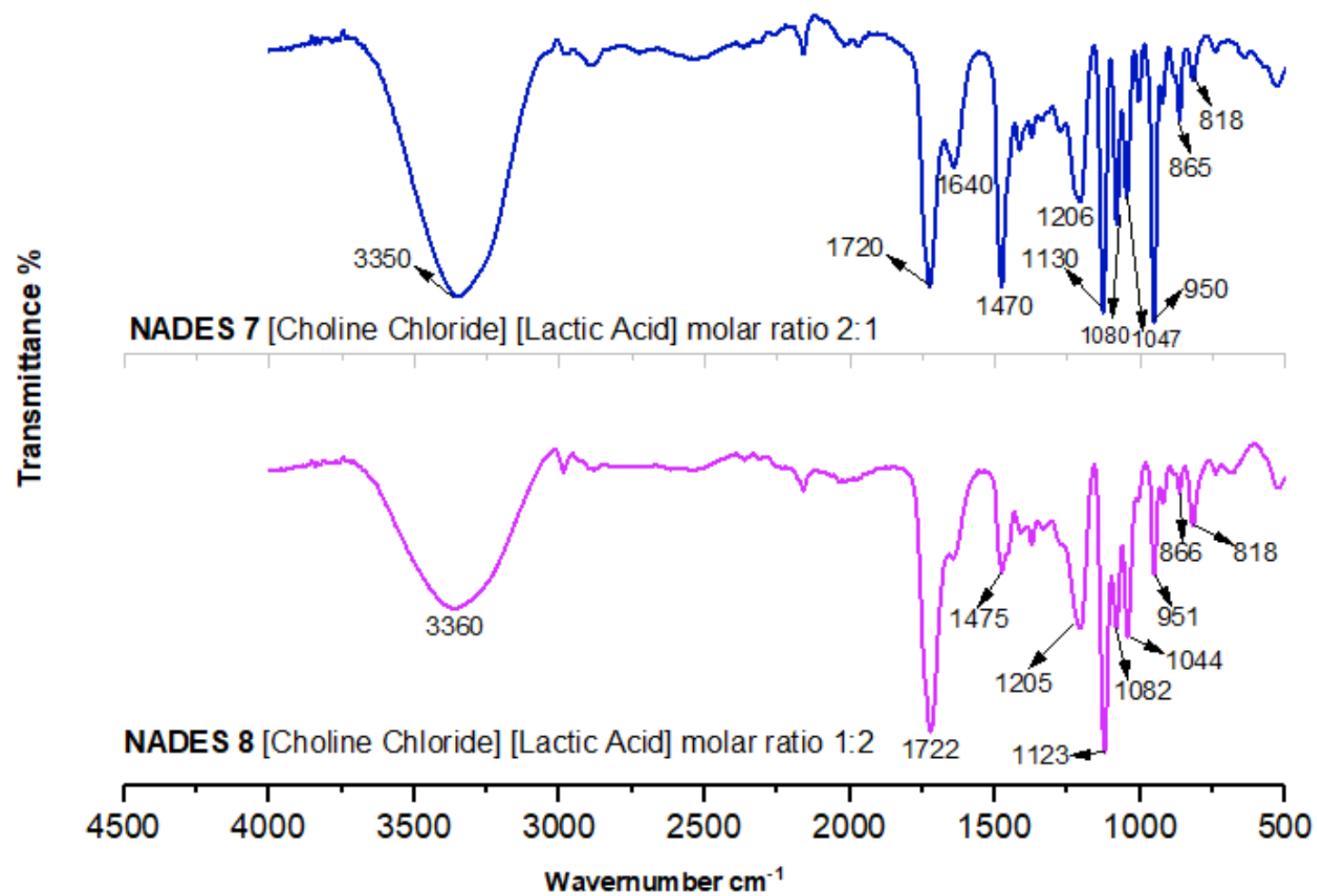


Fig. 3.8 Espectro FR-IR de los NADES 7 y NADES 8

En general, los espectros confirmaron que los NADES son mezclas, mostrando la presencia de sus componentes y la acción combinada de enlaces de hidrógeno y de Van Der Waals sin que se produzcan reacciones químicas.

Específicamente, las bandas a 3400 y 3320 cm^{-1} correspondieron al pico de absorción característico de los grupos OH.

En concreto, los NADES 1, 2 y 9 presentaron picos de OH correspondientes a grupos alcohol del GLY, mientras que los NADES 3 y 4 mostraron grupos OH provenientes del agua presente en la mezcla. Los picos de OH más intensos se identificaron en los NADES 3-9, debido al alto contenido de agua en el NADES 3 y a las interacciones entre el GLY y el agua en el 9. Además, se identificaron vibraciones de estiramiento a 1720 cm^{-1} del C=O en los NADES 1, 2, 9, 3 y 4, que contienen CA, LA y AcA; sin embargo, el pico más intenso se observó en el NADES 4, ya que corresponde al CA, que incluye más grupos C=O. A su vez, en los NADES 3 y 4 se identificaron grupos CH_2 provenientes de CH-Cl, mientras que en todos los NADES estudiados se observaron grupos CH a 1100 cm^{-1} . La vibración de estiramiento a 1571 cm^{-1} fue característica de los grupos carbonilo CH, mientras que las bandas a 750 cm^{-1} corresponden a la vibración de cizallamiento del enlace C-Cl en los NADES 3 y 4. La Fig. 3.5 Espectro TR-IR de los NADES 1, NADES 2 y NADES 9, muestra el posible mecanismo de interacción de los componentes de la mezcla en los NADES 1 y 4.

En el NADES 1, el GLY podría actuar como aceptor de enlaces de hidrógeno (HBA), ya que contiene tres grupos hidroxilo (-OH). Por lo tanto, el H puede actuar como aceptor de átomos electronegativos del grupo carboxilo (-COOH) y del grupo -OH del LA, incluyendo los del GLY, lo que permite la formación de una red tridimensional de enlaces de hidrógeno con el LA. A su vez, el GLU también puede interactuar mediante enlaces de hidrógeno, ya que posee numerosos grupos polares (-OH), actuando como aceptor y donador de enlaces de hidrógeno con los átomos de oxígeno del LA y el GLY. En este caso, las interacciones se producen cuando los

átomos de hidrógeno del GLU son atraídos por el par de electrones no enlazantes del átomo de oxígeno electronegativo del GLY.

Las interacciones en el NADES 8 se producen debido a la electronegatividad del ion Cl, que actúa como aceptor de enlaces de hidrógeno de los átomos de hidrógeno del LA y el H₂O.

3.3 Betalaínas

3.3.1 Determinación de contenido de betalaínas

En la siguiente tabla se presentan los resultados obtenidos de las mediciones por espectrometría UV-Vis de mezclas eutécticas con extracto de betabel en los diferentes NADES

Tabla 3.2 Resultados de medición de contenido de betalainas

Número NADES	Materia Prima			Proporción	Día 0		
	Reactivo 1	Reactivo 2	Reactivo 3		Betaxantinas	Betacianinas	Betalainas
1	Glucosa	Glicerol	Ácido Láctico	1: 2: 5	147.1932	296.406	443.5992
2	Etilenglicol	Glicerol	Ácido Acético	1: 1: 1	220.90068	387.486	608.38668
3	Cloruro de colina	Ácido Cítrico	Agua desionizada	2: 1: 30%	206.34768	409.7016	616.04928
4	Cloruro de colina	Ácido Cítrico	Agua desionizada	1: 2: 30%	180.20772	371.1312	551.33892
5	Cloruro de colina	Urea	Agua desionizada	2:1: 30%	248.81472	427.4424	676.25712
6	Cloruro de colina	Urea	Agua desionizada	1: 2: 40%	240.22152	418.2552	658.47672
7	Cloruro de colina	Ácido Láctico	Agua desionizada	2:1: 10%	205.128	390.6936	595.8216
8	Cloruro de colina	Ácido Láctico	Agua desionizada	1: 2: 10%	194.8716	384.2784	579.15
9	Ácido Cítrico	Glicerol	Agua desionizada	1: 3: 10%	187.77528	377.2692	565.04448
10	Agua desionizada				189.49392	393.1092	582.60312
11	Agua desionizada				198.25344	394.8912	593.14464

Los NADES 2-5 confirmaron su alta capacidad de extracción de betalaínas. Se observó la mayor concentración de betalaínas, mientras que las propiedades de los

NADES 1 y 9 afectaron la transferencia de betalaínas, mostrando menor difusión y concentración en el equilibrio.

En consecuencia, los NADES 2-8, conformados por GLY-AcA-EG, ChCl-CA-H₂O, ChCl-U-H₂O y ChCl-LA-H₂O, podrían ser los NADES más selectivos para la extracción de betalaínas, ya que presentaron la máxima concentración en comparación con el control.

La capacidad de disolución de betalaínas por los NADES 2-8 se asoció con la polaridad, la viscosidad y la estructura química de los NADES, lo que permite la transferencia de masa e interacciones con las betalaínas mediante enlaces de hidrógeno. A su vez, la alta capacidad de los NADES ácidos para capturar betalaínas durante la extracción podría basarse en el contenido de grupos COOH, que permiten una mayor cantidad de enlaces de hidrógeno y, por lo tanto, una mayor solubilidad y selectividad por parte de las betalaínas.

Además, las interacciones máximas se logran mediante el Cl⁻ del Ch en los NADES 3-8; sin embargo, la presencia de GLY disminuyó la posibilidad de interacciones, ya que su alta viscosidad reduce la disolución de las betalaínas.

Los informes que utilizaron NADES para extraer betalaínas no fueron comparables con el presente estudio, lo cual se atribuyó a las diferencias en las condiciones de extracción, la materia prima y el NADES utilizado. En este contexto, el estudio de Kaba et al., (2024) mostró 1,2 mg/g de betalaínas de pulpa de remolacha en NADES ChCl:GLU (1:0,75) con un 30,8 % de agua.

Hernández et al., 2021 reportaron 1,3 mg/g de betalaínas de cáscara de remolacha, utilizando NADES MgCl₂-U-H₂O (2:1:6). A partir de polvo de cáscara de pitahaya, Liu et al., (2025) detectaron 4,4 mg/g de betalaínas en NADES ChCl- CA (1:1).

A su vez, los informes actuales que muestran la concentración de betalaínas en extractos acuosos y alcohólicos han presentado discrepancias en las betalaínas contenidas en extractos de diferentes fuentes. Por ejemplo, López et al., (2025) reportaron 0,86 mg/g de betalaínas en jugo de pulpa y cáscara de remolacha descongeladas. Los autores añadieron 1% de CA (ácido cítrico) al jugo como conservante y, tras reducir el contenido de agua en las muestras, obtuvieron jugo concentrado.

Oktay et al., (2024) detectaron 0,47 mg/g de betalaínas en extractos etanólicos de tuna, utilizando extracción por UAE y condiciones óptimas: 30 min de tiempo de extracción, 50 °C, 40% de concentración de etanol y una relación sólido/solvente de 1:30.

Permana et al., (2025) reportaron 72,37 mg/L de betalaínas en extractos acuosos de pitahaya mediante extracción en condiciones óptimas, con un pH de 3,6, una temperatura de 30 °C, un tiempo de extracción de 10 min y una relación sólido/líquido de 1:15. Rodríguez et al., (2024) utilizaron el método UAE para extraer betalaínas de la pitahaya roja, observando 1,66 mg/g en los extractos etanólicos.

3.4 Determinación de las condiciones de almacenamiento

En la siguiente tabla se presentan los resultados obtenidos de las mediciones por espectrometría UV-Vis de mezclas eutécticas con extracto de betabel en los diferentes NADES después de 60 días en diferentes condiciones de almacenamiento, es decir; a temperatura ambiente y a temperatura de refrigeración

Tabla 3.3 Resultados de medición de contenido de betalainas después de 60 días

Número NADES	Materia Prima			Proporción	Día 60 Temperatura ambiente			Día 60 Temperatura refrigeración		
	Reactivo 1	Reactivo 2	Reactivo 3		Betaxantinas mg/g	Betacianinas mg/g	Betalainas mg/g	Betaxantinas mg/g	Betacianinas mg/g	Betalainas mg/g
1	Glucosa	Glicerol	Ácido Láctico	1: 2: 5	42.1344	38.9268	199.63152	89.14752	110.484	81.0612
2	Etilenglicol	Glicerol	Ácido Acético	1: 1: 1	145.14192	87.7536	494.802	219.5424	275.2596	232.89552
3	Cloruro de colina	Ácido Cítrico	Agua desionizada	2: 1: 30%	49.4802	38.016	506.74536	228.91176	277.8336	87.4962
4	Cloruro de colina	Ácido Cítrico	Agua desionizada	1: 2: 30%	44.54604	40.2336	119.22768	57.76848	61.4592	84.77964
5	Cloruro de colina	Urea	Agua desionizada	2:1: 30%	35.0658	38.9664	443.01312	155.95272	287.0604	74.0322
6	Cloruro de colina	Urea	Agua desionizada	1: 2: 40%	52.97292	62.4888	447.678	148.0248	299.6532	115.46172
7	Cloruro de colina	Ácido Láctico	Agua desionizada	2:1: 10%	117.61596	86.526	504.21096	223.36776	280.8432	204.14196
8	Cloruro de colina	Ácido Láctico	Agua desionizada	1: 2: 10%	84.90636	68.5476	411.76872	180.34632	231.4224	153.45396
9	Ácido Cítrico	Glicerol	Agua desionizada	1: 3: 10%	29.46636	33.0264	75.5568	37.6992	37.8576	62.49276
10	Agua desionizada				113.70744	129.6108	118.68912	56.99232	61.6968	243.31824
11	Agua desionizada				78.78024	89.5356	119.2554	57.2418	62.0136	168.31584

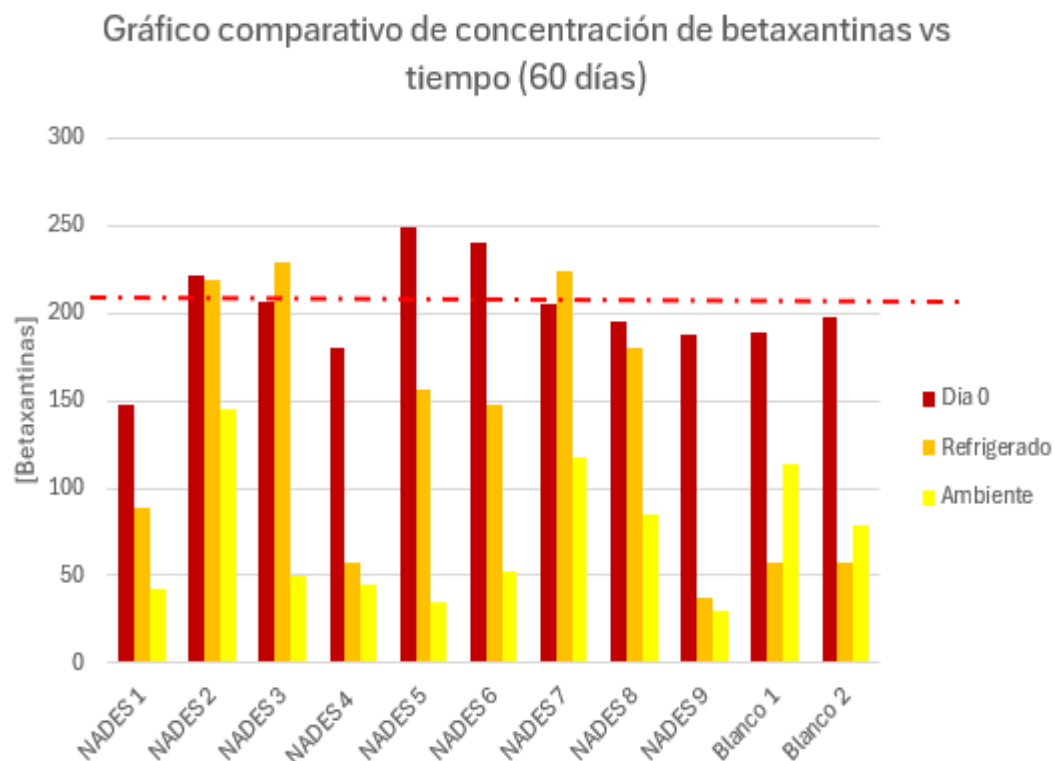


Figura 3.9 Gráfico comparativo de concentración de betaxantinas vs tiempo (60 días)

En la Figura 3.9 Gráfico comparativo de concentración de betaxantinas vs tiempo (60 días) de manera inicial se observa que los NADES 5, 6 y 2 fueron los que muestran la mayor concentración de betaxantinas y el solvente con menor capacidad de extracción fue el NADES 1 al tiempo 0

Particularmente se observa que existe una disminución poco significativa de betaxantinas para los NADES 2, NADES 3, NADES 7 y NADES 8 de las muestras iniciales y las muestras en refrigeración

No obstante, se observa un decremento mayor del 70% de betaxantinas en el NADES 9 tanto para muestra en refrigeración como en muestra conservada a temperatura ambiente.

Respecto a los blancos se observa que existe una disminución menor al 50% de betaxantinas

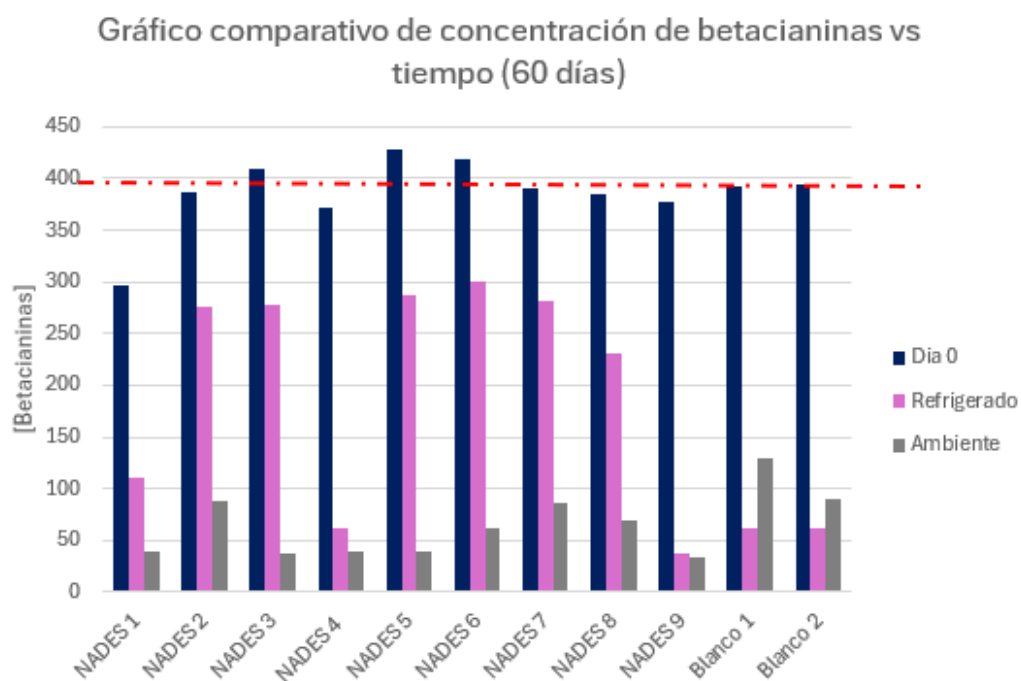


Figura 3.10 Gráfico comparativo de concentración de betacianinas vs tiempo (60 días)

Como se muestra en la Figura 3.10 Gráfico comparativo de concentración de betacianinas vs tiempo (60 días) de manera inicial se observa que los NADES 5, 6 y 2 fueron los que muestran la mayor concentración de betaxantinas y el solvente con menor capacidad de extracción fue el NADES 1

Particularmente se observa que existe una disminución poco significativa de betacianinas para los NADES 2, NADES 3, NADES 7 y NADES 8 de las muestras iniciales y las muestras en refrigeración

No obstante, se observa un decremento mayor del 70% de betacianinas en el NADES 9 tanto para muestra en refrigeración como en muestra conservada a temperatura ambiente.

Respecto a los blancos se observa que existe una disminución menor al 50% de betacianinas.

En el Figura 3.7 Gráfico comparativo de concentración de betalaínas totales s vs tiempo (60 días)

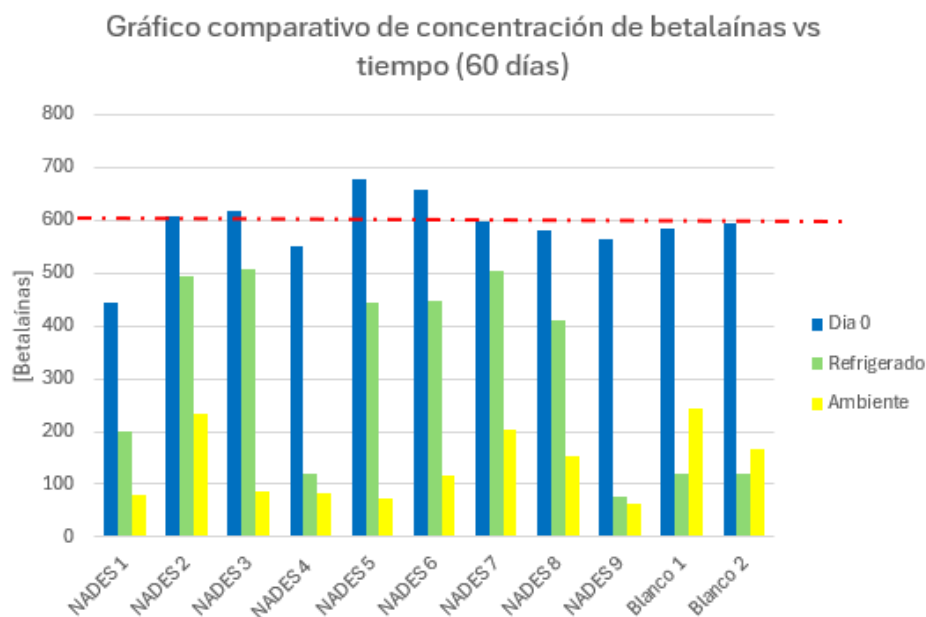


Figura 3.11 Gráfico comparativo de concentración de betalaínas totales s vs tiempo (60 días)

En la Figura 3.11 Gráfico comparativo de concentración de betalaínas totales vs tiempo (60 días) de manera inicial se observa que los NADES 5, 6 y 2 fueron los

que muestran la mayor concentración de betalaínas totales y el solvente con menor capacidad de extracción fue el NADES 1, siendo este un patrón que se repite en todas las mediciones.

Los NADES que mostraron un comportamiento más estable fueron los NADES 2, NADES 3 y NADES 7 de las muestras iniciales en comparación con las muestras en refrigeración.

No obstante, se observa un decremento mayor del 70% de betalaínas totales en el NADES 9 tanto para muestra en refrigeración como en muestra conservada a temperatura ambiente.

Respecto a los blancos se observa que existe una disminución menor al 50% de betalaínas totales.

En la Figura 3.11 Imagen comparativa de la apariencia de los extractos, se observa un cambio de coloración de las muestras almacenadas a temperatura ambiente respecto a las almacenadas en refrigeración.

Otra observación tiene que ver con la apariencia de las muestras, las almacenadas a temperatura ambiente muestran tonalidades rojizas- café lo que denota una degradación de las betalaínas, que se comprueba con los resultados de la Tabla anterior.

Visualmente se observa que los blancos donde el solvente de extracción fue agua desionizada existió una separación de fase, mostrando tonalidades café- verdosas, efecto mostrado en ambos experimentos.

Cabe señalar que las muestras que corresponde a los NADES 5 y 6 de las almacenadas en refrigeración fueron las que mostraron tonalidades moradas-lila.

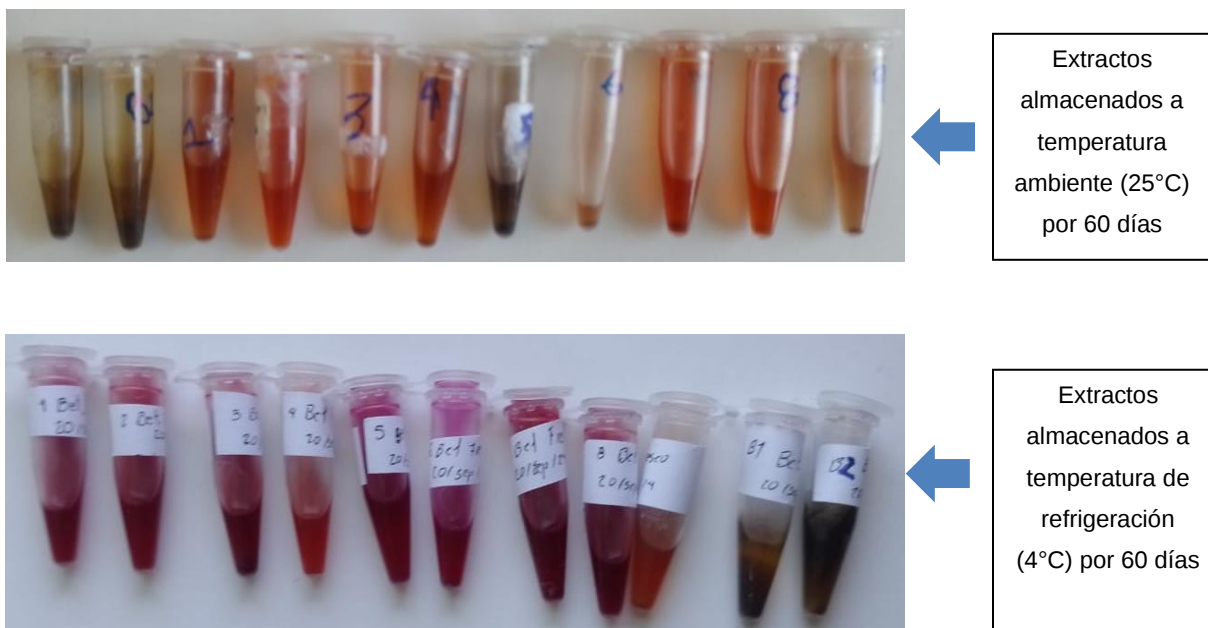


Figura 3.12. Imagen comparativa de la apariencia de los extractos.

En cuanto a los extractos obtenidos para mezclas de NADES con el betabel seco, a la fecha no se han realizado mediciones, debido a que se cuenta con poco material para realizarlo, se considera realizar las mediciones pasados 100 días y 150 días.

No obstante, en la Figura 3.9. Imagen comparativa de la apariencia de los extractos con betabel seco, se visualiza lo siguiente: en el caso de los extractos con betabel seco se observa que la temperatura es un factor de degradación de las betalaínas, ya que se nota una disminución de tonalidades rojizas y moradas mientras que en los blancos visualmente se notan tonalidades café- verde, cabe señalar que respecto a las muestras de extractos con jugo de betabel, las realizadas con material seco se visualizan con tonalidades mas intensas, es decir, menos perdida de color.

También es posible visualizar que las muestras mantenidas en refrigeración preservan el color y es posible identificar a los NADES 3, NADES4 y NADES 9 con tonalidad moradas-lilas, mientras que los demás mantienen tonalidades rojizas.

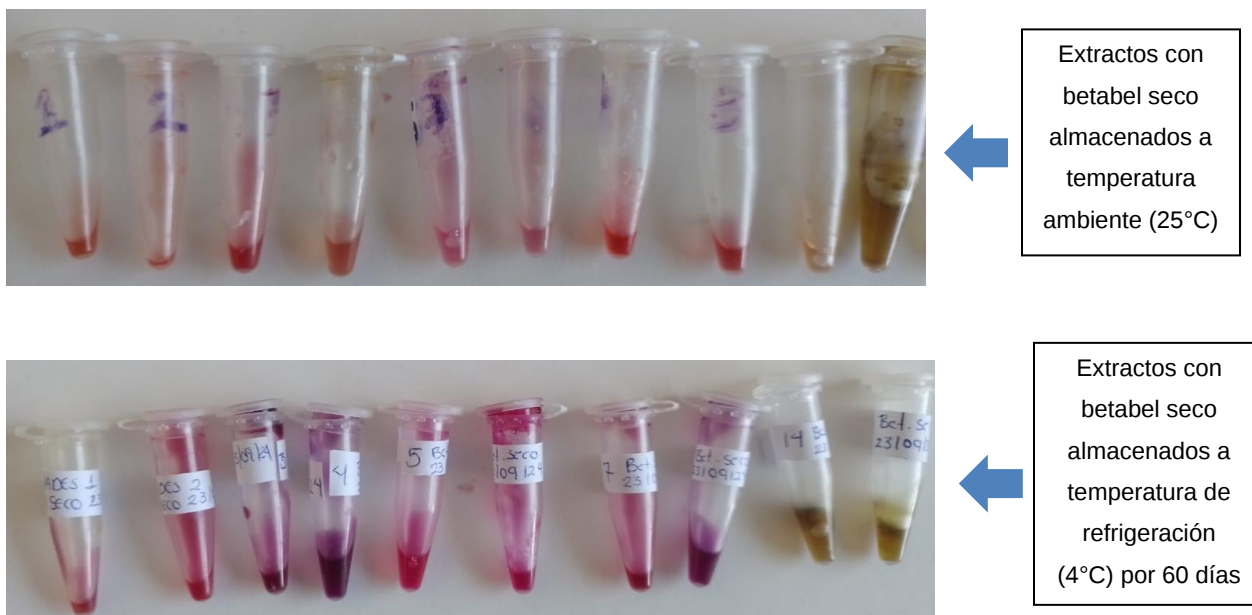


Figura 3.9. Imagen comparativa de la apariencia de los extractos con betabel seco.

Lo anterior demuestra que el contenido de agua es una causa importante de la degradación de las betalaínas.

Posteriormente, Rodríguez et al., (2024) estudiaron la vida útil de las betalaínas encapsuladas de la pulpa de pitahaya. Observaron una degradación del 14,28 % de las betalaínas en 90 días en un ambiente protegido de la luz. Asimismo, Fathordoobady et al., (2021) estudiaron la estabilidad de las betacianinas de *H. polyrhizus* encapsuladas en microesferas de alginato, observando una pérdida significativa de betacianinas después de 60 días de almacenamiento.

Según los datos, la estabilidad de las betalainas depende de las condiciones de almacenamiento; sin embargo, los NADES proporcionan una vida útil mayor que los solventes de agua y alcohol.

3.5 Cinética de degradación

En la tabla 3.3 se muestran los datos de la cinética de betalaínas de remolacha en NADES (1-9) durante su almacenamiento a 4 °C durante 120 días. Los datos incluyen muestras de control y las betalaínas extraídas con NADES. Los resultados se realizaron por triplicados.

La información describe el mantenimiento de las betalaínas en NADES 1-9 mediante un modelo cinético de primer orden (Ec. 4).

El tiempo (t) corresponde a los días de almacenamiento de las muestras; BC es el contenido de betalaínas (mg/g) en diferentes tiempos (t). C₀ es el contenido de betalaínas en t = 0. La tasa de degradación de las betalaínas (K) (días⁻¹) se indica en la Ec 5 y corresponde a la pendiente de la recta, mientras que los cálculos de BC se determinaron mediante la Ec 6. La vida media (t_{1/2}) expresa el tiempo en el que las muestras presentan una degradación del 50 % de las betalaínas con respecto a C₀.

$$\frac{dBC}{dt} = -KBC \quad \dots\dots\dots(4)$$

$$\ln \left(\frac{BC}{BC_0} \right) = -Kt \quad \dots\dots\dots(5)$$

$$\ln (BC) = -Kt + \ln BC_0 \quad \dots\dots\dots(6)$$

Tabla 3.4 Cinética de degradación de contenido de betalaínas (mg/g) en NADES almacenadas a 4°C

NADES	Tiempo de almacenamiento (días)			Constante cinética K/días (10 ⁻³)	Vida media t _{1/2} (días)
	0	60	120		
BJ (Control)	0.42±0.001	0.05±0.001	0.0±0.001	6.00	5
B1 (Control)	0.21±0.003	0.0±0.001	0.0±0.001	4.00	1
1	0.19±0.001	0.11±0.001	0.05±0.001	1.00	150
2	0.26±0.001	0.23±0.001	0.18±0.001	0.50	240
3	0.28±0.001	0.21±0.001	0.08±0.001	1.16	200
4	0.24±0.001	0.20±0.001	0.10±0.001	0.60	100
5	0.30±0.005	0.20±0.005	0.10±0.005	1.60	80
6	0.28±0.005	0.20±0.005	0.10±0.005	1.35	105
7	0.28±0.005	0.27±0.003	0.17±0.003	0.23	260
8	0.25±0.002	0.18±0.002	0.10±0.002	1.27	110
9	0.25±0.002	0.10±0.002	0.10±0.002	0.83	100

Como era de esperar, la vida media (t_{1/2} días) de las betalaínas en las muestras de control BJ y B1 fue corta, mostrando altos valores de constante de degradación (K).

A su vez, se observó una alta conservación de las betalaínas en los NADES 2 (GLY-AcA-EG) y 7 (ChCl-LA-H₂O), alcanzando vidas medias de 240 y 260 días respectivamente, mientras que otros NADES mostraron una degradación del 50% de las betalaínas en 80-110 días.

La larga vida media de las betalaínas en los NADES 2 y 7 se atribuyó a la fuerte unión de las betalaínas a los componentes de los NADES, lo que provoca fuertes interacciones de enlaces de hidrógeno entre las betalaínas y los NADES. Por otro

lado, la corta vida media de las betalaínas en los demás NADES se asoció a la débil retención de las betalaínas por interacciones débiles.

Sin embargo, la degradación de las betalaínas por los NADES podría estar relacionada principalmente con el contenido de agua, que causa hidrólisis. La elevada vida media de las betalaínas en NADES 2 también se relacionó con el azúcar, ya que actúa como conservante natural. Además, la viscosidad de NADES podría influir en la conservación de los datos.

En el estudio de Kaba et al., (2024) se encontró información sobre la conservación de las betalaínas durante su almacenamiento en NADES. Analizaron la degradación de betalaínas de remolacha en NADES ChCl-GLU (1:0,75), reportando una degradación del 59,5 % de las betalaínas durante 9 días en condiciones de oscuridad y del 85 % en ambientes con luz; ambos análisis se realizaron a 20 °C.

Por otra parte, Dai et al., (2014) demostraron que NADES sacarosa-ChCl y Glu-ChCl conservaron el 90 % de un pigmento rojo de la cartamina (flor de mar) durante 60 días; sin embargo, la temperatura de almacenamiento fue de -20 °C. La larga vida útil de la cartamina se atribuyó a la viscosidad del NADES y a la temperatura de almacenamiento.

Otros estudios sobre la conservación de betalaínas mostraron que el jugo concentrado de betalaínas de remolacha (que contenía un 10 % de agua y ácido cítrico como conservante) retuvo el 80 % de las betalaínas durante 360 días a 4 °C y en condiciones de oscuridad. Sin embargo, utilizaron una sola etapa de concentración del jugo para reducir el agua, lo que demuestra que el contenido de agua es una causa importante de la degradación de las betalaínas.

Posteriormente, Rodríguez et al., (2024) estudiaron la vida útil de las betalaínas encapsuladas de pulpa de pitahaya. Observaron una degradación del 14,28 % de las betalaínas en 90 días en un ambiente protegido de la luz. Asimismo, Fathordoobady et al., (2021) estudiaron la estabilidad de las betacianinas de H.

polyrhizus encapsuladas en microesferas de alginato, observando una pérdida significativa de betacianinas después de 60 días de almacenamiento.

Según los datos, la estabilidad de las betalainas depende de las condiciones de almacenamiento. Sin embargo, los NADES proporcionan una vida útil más larga que los disolventes de agua y alcohol.

4. CONCLUSIONES

Actualmente, los NADES se estudian para extraer fragmentos activos de plantas con aplicación principal en formulaciones farmacéuticas, obteniendo resultados prometedores. Sin embargo, debido a su naturaleza y composición, también pueden utilizarse para extraer y preservar moléculas pigmentadas de fuentes naturales, mejorando además la estabilidad de los pigmentos.

En el presente estudio se probaron nueve NADES para extraer y preservar betalaínas del jugo de residuos de remolacha. Mediante espectroscopia FTIR, los NADES 1-9 confirmaron ser mezclas que contienen picos intensos en OH, debido a la presencia de glicina y agua, mientras que la presencia de ácidos orgánicos se describió mediante grupos COOH y la presencia de CCl₄ confirmó la presencia de cloruro de cloro.

A su vez, las características fisicoquímicas de los NADES dieron lugar a diferentes propiedades, observándose las mayores viscosidades y densidades en los NADES que contenían glicina; sin embargo, estos eran solventes hidrófilos.

Durante la extracción de betalaínas del jugo de betabel, los NADES que contenían ácidos orgánicos y agua mostraron la máxima disolución y retención de betalaínas. Sin embargo, todos los NADES extrajeron betalaínas, observándose un contenido superior en comparación con el disolvente acuoso.

Durante su almacenamiento, las betalaínas en los NADES se conservaron en condiciones de refrigeración. En particular, los NADES que contenían GLY-AcA-EG presentaron la máxima conservación de betalaínas.

Es necesario realizar más estudios para demostrar su producción y aplicación como pigmentos naturales en alimentos.

Dado lo anterior se concluye que las betalaínas totales se mantienen más estable en condiciones de temperatura controlada, que los NADES más eficientes para la extracción de betalaínas con los NADES 5 y 6, mientras que el solvente eutéctico menos eficiente para la extracción y conservación de las betalaínas es el NADES 1.

Se demostró que existen solventes eutécticos que son más eficientes que el uso de agua desionizada (blanco) para la extracción de betalaínas de betabel, y que tienen la capacidad de mantener las betalaínas estables a través del tiempo.

5. FUENTES CONSULTADAS

Abbott, A. P., Capper, G., Davies, D. L., Rasheed, R. K., y Tambyrajah, V. (2003). Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures. *Chemical Communications*, (1), 70–71.

Alyammahi J, Darwish AS, Almustafa G, Lemaoui T, Alnashef I, Hasan W, Taher H, Banat F (2023) Natural deep eutectic solvents for Ultrasonic-Assisted extraction of nutritious date Sugar: MolecularScreening, Experimental, and prediction. *Ultrason Sonochem* 98:106514. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2023.106514>

Azeredo, H. M. C. (2009). Betalains: properties, sources, applications, and stability – a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(12), 2365–2376. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2007.01668.x>

Bucur, L., Țarălungă, G. y Schroder, V. (2016). The betalains content and antioxidant capacity of red beet (*Beta vulgaris* L. subsp. *vulgaris*) root. *Farmacia*, 64(2), 198–201

Dai Y, Verpoorte R, Choi YH (2014) Natural deep eutectic solvents providing enhanced stability of natural colorants from safflower (*Carthamus tinctorius*). *Food Chem* 159:116-121. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.155>

Delgado Rodríguez, J. C., Arango Romero, P. A., & Benítez Benítez, R. (2023). Extracción verde y eficiente de cannabidiol, tetrahidrocannabinol, cannabinol y cannabigerol de *Cannabis sativa* empleando disolventes eutécticos profundos naturales basados en mentol. *Ciencia E Ingeniería Neogranadina*, 33(1), 87–104. <https://doi.org/10.18359/rcin.6588>

Fathordoobady F, Jarzębski M, Pratap A, Guo Y, Abd Y (2021) Encapsulation of betacyanins from the peel of red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus* L.) in alginate

microbeads. Food Hydrocolloids 113 :106535. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106535>.

Flores Mancha, M. A., Rentería Monterrubio, A. L., Chávez Martínez A., (2019) Structure and Stability of Betalaínes. Asociación Interciencia.

García-Roldán A, Piriou L & Jauregi P (2023) Natural deep eutectic solvents as a green extraction of polyphenols from spent coffee ground with enhanced bioactivities. Front. Plant Sci. 13:1072592. Doi: 10.3389/fpls.2022.1072592

Garzón G. A., Anthocyanins as Natural Colorants and Bioactive Compounds (2008)

Gómez Cipriano, J., Zafra Rojas, Q. &, Cruz Cansino, N. del S., Martínez Román, M. E., Ramírez Moreno, E., & García Rosales, R. U. (2022). Uso del betabel (*Beta vulgaris*) como tratamiento alternativo en la anemia ferropénica. Educación Y Salud Boletín Científico Instituto De Ciencias De La Salud Universidad Autónoma Del Estado De Hidalgo, 10(20), 160-166. <https://doi.org/10.29057/icsa.v10i20.7743>

Grishina Grishina EP & Kudryakova NO (2017) Conductivity and electrochemical stability of concentrated aqueous choline chloride solutions. Russ J Phys Chem 91:2024-2028. <https://doi.org/10.1134/S0036024417100144>

Hernández-Aguirre, O.A., Muro, C., Hernández-Acosta, E., Alvarado, Y & Díaz-Nava, M.d.C. Extraction and Stabilization of Betalains from Beetroot (*Beta vulgaris*) Wastes Using Deep Eutectic Solvents. Molecules 2021, 26, 6342. <https://doi.org/10.3390/molecules26216342>

J. C. Delgado Rodríguez, P. A. Arango Romero, y R. Benítez Benítez, «Extracción verde y eficiente de cannabidiol, tetrahidrocannabinol, cannabinol y cannabigerol de Cannabis sativa empleando disolventes eutécticos profundos naturales basados en mentol», Cien.Ing. Neogranadina, vol. 33, n.º 1, pp. 87–104, jun 2023

Kaba B, Zannou O, Ali A (2024) Enhancing extraction of betalains from beetroot (*Beta vulgaris* L.) using deep eutectic solvents: optimization, bioaccessibility and stability. *Food Prod Process Nutr* 6. <https://doi.org/10.1186/s43014-023-00208-2>

Liu Y, Mu X, Wang H, Wang M, Zhang L, Chen G, Wang S (2025) Extraction of betalaine from red pitaya peel using deep eutectic solvent and its research in films. *Food Bioprod Process* 149:16-24. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2024.11.005>.

López E, Muro C, Alvarado Y, Guadarrama AY, Gutierrez E, Urrieta JM (2025) Conservation Analysis and Colorimetric Characterization of Betalain Extracts from the Peel of Red Beetroot, Golden Beetroot, and Prickly Pear Applied to Cottage Cheese. *Foods* 14:1-19. <https://doi.org/10.3390/foods14020228>

Manchali, S., Murthy, K. N. C., Nagaraju, S., y Neelwarne, B. (2013). Stability of betalain pigments of red beet. En B. Neelwarne (Ed.), *Red beet biotechnology: Food and pharmaceutical applications* (pp. 55–74) https://doi.org/10.1007/978-1-4614-3458-0_3

Moya, M. S. A., & Sancho, N. (2010). Alquimia: Pigmentos y colorantes históricos. *Anales de Química de la RSEQ*, (1), 58-65.

Oktay BA, Turabi E, Aykut S (2024) Ultrasound-assisted extraction of betalain-rich bioactive compounds of prickly pear fruit: An optimization study. *Food Biosci* 61:104734. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.104734>

Palos-Hernández A., Gutiérrez-Fernández M. Y., Escuadra Burrieza J., Pérez-Iglesias J.L., & González-Paramás A.M. (2022). Obtaining green extracts rich in phenolic compounds from underexploited food by-products using natural deep eutectic solvents. Opportunities and challenges. *Sustainable Chemistry and*

Pharmacy. Volume 29 (100773), ISSN 2352-5541.<https://doi.org/10.1016/j.scp.2022.100773>.

Permana L, Sriprom P, Manamoongmongkol K (2025) Optimization of betalain extraction from dragon fruit (*Hylocereus undatus*) peel and effect of pH on its properties. Biomass Convers Biorefin 15:3545-3556. <https://doi.org/10.1007/s13399-023-05260-z>

Popovic B.M., Micic N., Potkonjak A., Blagojevic B., Ksenija Pavlovic, Dubravka M., Tatjana Juric, Novel Extraction of polyphenols from sour cherry pomace using natural deep eutectic solvents – Ultrafast microwave-assisted NADES preparation and extraction, Food Chemistry, Volume 366, 2022, 130562, ISSN 0308-8146, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130562>.

Revista Química Viva - Número 3, año 12, diciembre 2013 - quimicaviva@qb.fcen.uba.ar 241.

Rodriguez-Amaya D. B., (2019). Update on natural food pigments - A mini-review on carotenoids, anthocyanins, and betalains. Food Res Int. Oct 124:200-205. Doi: 10.1016/j.foodres.2018.05.028. E pub 2018 May 19. PMID: 31466641. DOI: 10.1016/j.foodres.2018.05.028.

Rodrigues TR, Barbosa A, Carneiro CM, Vanubia P, Converti A, Dos Santos M, Sucupira MI (2024) Red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) as a source of betalains and phenolic compounds: Ultrasound extraction, microencapsulation, and evaluation of stability. LWT Food Sci Technol 196:115755. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.115755>.

Sánchez Bragagnolo Felipe, Monique Martins Strieder, Rodrigo Stein Pizani, Leonardo M. de Souza Mesquita, María González-Miquel, Maurício Ariel Rostagno,

Revisiting natural deep eutectic solvents (NADES) as extraction media and ready-to-use purposes, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. Volume 175 (2024)
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2024.117726>

Sánchez San Segundo, J., (2019). Formación y caracterización de disolventes eutécticos profundos: aplicación a la extracción de moléculas de interés. Proyecto Fin de Carrera / Trabajo Fin de Grado, E.T.S.I. Industriales (UPM).

Shafie MH, Yusof R, Gan CY (2019) Synthesis of citric acid monohydrate-choline chloride based deep eutectic solvents (DES) and characterization of their physicochemical properties. *J Mol Liq* 288 :111081. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2019.111081>

Shin, K. S., Murthy, H. N., Ko, J. Y., y Paek, K. Y. (2003). Induction of betalain pigmentation in hairy roots of red beet under different radiation sources. *Biologia Plantarum*, 46(1), 149–152. <https://doi.org/10.1023/A:1027313805930>

Suthar P., Kaushal M., Vaidya D., Thakur M., Chauhan P., Angmo D., Kashyap S, Negi N., (2023) Deep eutectic solvents (DES): An update on the applications in food sectors, *Journal of Agriculture and Food Research*, Volume 14 100678, ISSN 2666-1543. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100678>.

Tesis (Ingeniera en Procesos Biotecnológicos), Universidad San Francisco de Quito, Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales; Quito, Ecuador, 2019

Tituaña Puente, A. C. (2019). Evaluación del uso potencial del colorante extraído de la semilla del aguacate (*Persea americana*) como producto funcional alimenticio (Trabajo de titulación). Universidad San Francisco de Quito, Quito, Ecuador. Recuperado de Repositorio Institucional USFQ

Torres Cornejo, M. V. El rol de los solventes eutécticos para obtener compuestos bioactivos de fuentes naturales 2020

Von Elbe, J. H., Maing, I.-Y., y Amundson, C. H. (1974). Color stability of betanin. *Journal of Food Science*, 39(2), 334–337. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1974.tb02888.x>

Wounter Oomen W., (2020) Natural Deep Eutectic Solvent Extraction of Flavonoids of *Scutellaria baicalensis* as a Replacement for Conventional Organic Solvents *Molecules* 2020, 25(3), 617; <https://doi.org/10.3390/molecules25030617>

Yadav S., Singh Tiwari K., Gupta C., Kumar Tiwari M., Khan A & Sonkar S., (2023) A brief review on natural dyes, pigments: Recent advances and future perspectives, *Results in Chemistry*, Volume 5. 100733, ISSN 2211-7156, <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2022.100733>

Young Hae Choi & others (2011) Are Natural Deep Eutectic Solvents the Missing Link in Understanding Cellular Metabolism and Physiology, *Plant Physiology*, Volume 156, Issue 4, Pages 1701–1705, <https://doi.org/10.1104/pp.111.178426>