



SEP

SES

TecNM

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TOLUCA

**ESTABILIZACIÓN DE BETALAÍNAS DE BETABEL PARA
PROLONGAR SU VIDA DE ANAQUEL**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS EN INGENIERÍA AMBIENTAL**

**PRESENTA:
I.Q. ELIZABETH LÓPEZ SOLÓRZANO
No. CONTROL: M20280260**

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

METEPEC, ESTADO DE MÉXICO, DICIEMBRE DE 2021



Metepec, Edo. de México, 17/noviembre/2021
**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACIÓN**
DEPI-395-391/2021

ELIZABETH LÓPEZ SOLORZANO
CANDIDATA AL GRADO DE MAESTRA
EN CIENCIAS EN INGENIERIA AMBIENTAL
PRESENTE

De acuerdo con el Reglamento de Titulación del Sistema Nacional de Educación Superior Tecnológica dependiente de la Subsecretaría de Educación Superior de la Secretaría de Educación Pública y habiendo cumplido con todas las indicaciones que la Comisión Revisora realizó con respecto a su trabajo de Tesis titulado **“ESTABILIZACIÓN DE BETALAÍNAS DE BETABEL PARA PROLONGAR SU VIDA DE ANAQUEL”**, la División de Estudios de Posgrado e Investigación concede autorización para que proceda a la impresión del mismo

Sin más por el momento, quedo de usted.

ATENTAMENTE

“Excelencia en educación tecnológica”
“Educación, integridad y ciencia”

JOSÉ LUIS GARCÍA RIVAS
**JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACIÓN**



ccp. Archivo
JLGR/IMAB





Instituto Tecnológico de Toluca

Metepec, Edo. de México, 12/noviembre/2021

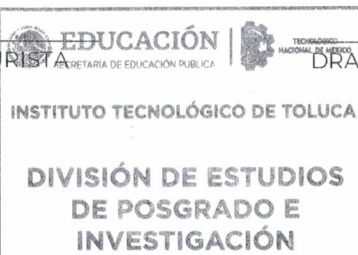
DR. JOSÉ LUIS GARCÍA RIVAS
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN
PRESENTE

Por este medio comunicamos a usted que la comisión Revisora designada para analizar la tesis denominada **“ESTABILIZACIÓN DE BETALAÍNAS DE BETABEL PARA PROLONGAR SU VIDA DE ANAQUEL”**, que como parte de los requisitos para obtener el grado académico de Maestra en Ciencias en Ingeniería Ambiental presenta la **C. ELIZABETH LOPEZ SOLORZANO** con número de control **M20280260** 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.

ATENTAMENTE

[Signature]
DRA CLAUDIA ROSARIO MUÑOZ URISTARTE
DIRECTORA DE TESIS

[Signature]
DRA MARIA DEL CARMEN DIAZ NAVA
REVISORA DE TESIS



[Signature]
DRA. YOLANDA ALVARADO PEREZ
REVISORA DE TESIS

[Signature]
DRA. MARIA CLAUDIA DELGADO HERNANDEZ
REVISORA DE TESIS



AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS

Llena de regocijo, de amor y esperanza, dedico este proyecto, a cada uno de mis seres queridos, quienes han sido mis pilares para seguir adelante.

A Dios que me ha ayudado durante toda mi vida, y me dio el valor, conocimiento y humildad para siempre regirme por el buen camino en cada situación que se me presentó, y me apoyó con la fortaleza para culminar esta etapa de mi vida profesional.

A mis padres, Arturo y Cande porque ellos son la motivación de mi vida, gracias a los valores que ellos me enseñan a diario, han logrado forjar esta profesionista, que hoy logra un anhelo más.

A mis hermanos Elvira, Arturo y Rosa María, que siempre me han apoyado a lograr mis metas, gracias por confiar en mí.

A Alejandro por apoyarme siempre en las decisiones acertadas o no, gracias por no dejarme sola.

Al Instituto Tecnológico de Toluca, por abrirme las puertas al mundo profesional, y en especial a mi directora de tesis Claudia Muro que siempre tuvo disponibilidad para lograr finalizar este proyecto.

RESUMEN

Los productos alimenticios con color atraen la atención de los consumidores; sin embargo, en la mayoría de los casos, los colorantes son sintéticos por lo que afectan la salud humana y el ambiente, lo que ha motivado el interés por el uso y consumo de pigmentos naturales.

Además de baja contaminación que tiene el uso, producción y consumo de los pigmentos naturales, también éstos presentan grandes ventajas a la salud, como lo es la actividad antioxidante que poseen, así como los grandes beneficios nutrimentales que causan su consumo. Sin embargo, también tienen desventajas, la exposición a la luz, oxígeno, agua y pH <3 o >7 afecta su composición hasta la degradación, mostrando vida de anaquel corta. Debido a estas limitaciones su uso es restringido en la industria de alimentos, por lo que la estabilidad de pigmentos naturales es un área de gran interés para la investigación.

En la presente investigación se estudió la obtención de un pigmento natural a partir de betabel, conformado por betalaínas. El objetivo fue obtener un extracto estable para su aplicación como pigmento en la industria de alimentos y prolongar su vida de anaquel.

La metodología propuesta consta de 2 etapas, la primera se refiere a la obtención de extractos con 3 métodos diferentes (prensado, extractor, molienda); obteniendo el rendimiento por volumen de extracto. A su vez, a los extractos se les determinó contenido de betalaínas y los sólidos totales.

La segunda etapa corresponde al estudio de la estabilización de betalaínas, utilizando la copigmentación como técnica de estabilización mediante la adición de un ácido orgánico y la concentración del extracto, retirando el agua contenida en los extractos, y la adición de polisacáridos como maltodextrina, pectina, goma arábica, y xiloglucano.

De la primera etapa se obtuvo como resultado que los extractos obtenidos por prensa, extractor y molienda exhibieron 914, 1123, 384 mg/L de betalaínas respectivamente.

En la etapa correspondiente a la estabilización, la copigmentación de extractos dio como resultado un incremento en el contenido de betalaínas, arrojando un rango de 1600-2800 mg/L.

A su vez, la adición de polímeros no modificó el contenido de betalaínas registrado. Con respecto a la estabilidad de betalaínas en anaquel, después de 6 meses de almacenamiento a 4°C, ambos tipos de extractos (aquellos tratados con la copigmentación y con la copigmentación y la adición de polímeros) han mostrado estabilidad, registrando 20% de pérdida de betalaínas en un rango de 1100-2300 mg/L de betalaínas, mientras que a 25°C los extractos solo se mantuvieron estables 30 días. Perdiendo gradualmente el 80% de betalaínas.

ABSTRACT

Food products with color attract the attention of consumers; however, in most cases, colorants are synthetic and therefore affect human health and the environment, which has motivated the interest in the use and consumption of natural pigments.

Natural pigments have great advantages, such as their antioxidant activity, other functional activities and great nutritional benefits. However, they also have disadvantages, exposure to light, oxygen, water and pH <3 or >7 affects their composition up to degradation, showing short shelf life. Due to these limitations their use is restricted in the food industry, so the stability of natural pigments is an area of great interest for research.

In the present investigation, the obtaining of a natural pigment from beet, made up of betalains, was studied. The objective was to obtain a stable extract for its application as a pigment in the food industry and to prolong its shelf life.

The proposed methodology consists of 2 stages, the first refers to obtaining extracts with 3 different methods (pressing, extractor, milling); obtaining the yield per volume of extract. At the same time, betalain content and total solids were determined for the extracts.

The second stage corresponds to the study of betalain stabilization, using copigmentation as a stabilization technique by adding an organic acid and concentrating the extract, removing the water contained in the extracts, and adding polysaccharides such as maltodextrin, pectin, gum arabic, and xyloglucan.

From the first stage, the extracts obtained by press, extractor and milling exhibited 914, 1123, 384 mg/L of betalains, respectively.

In the stage corresponding to betalain stabilization, copigmentation through the concentration of extracts increased the betalain content, yielding a range of 1600-2800 mg/L, for extracts from milling, extractor and press.

In turn, after polymerization and with 6 months of storage the extracts that remain stable are at 4°C with a range of 1100-2300 mg/L of betalains, with a degradation of 20%, while in those that are at 25°C remain stable at 30 days of storage after this time a decrease of up to 80% of betalain losses is observed at 6 months of storage.

ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS	i
RESUMEN	ii
ABSTRACT	iv
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	vi
ÍNDICE DE TABLAS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ix
1 FUNDAMENTOS.....	2
1.1 Colorantes naturales.....	6
1.2 Betabel como fuente de pigmentos naturales	7
1.3.1 Estructura química de las betalaínas del betabel.....	10
1.3.2 Factores que influyen en la estabilidad de las betalaínas.....	12
1.3.3 Mecanismos de degradación de las betalaínas.....	15
1.4 Técnicas de estabilización de betalaínas.....	18
1.4.1 Copigmentación	19
1.4.2 Agentes portadores y encapsulantes	19
1.6 Métodos de identificación y cuantificación de betalaínas.....	20
2 MÉTODO	22
2.1 Obtención de extractos de betalaínas de betabel	23
2.2 Determinación de rendimientos, contenido de betalaínas en extractos de betabel y sólidos totales.....	24
2.3 Análisis de la estabilidad de betalaínas en extractos de betabel.....	25
2.3.1 Copigmentación de betalaínas en extractos de betabel	26

2.3.2 Adición de portadores a extractos copigmentados	26
2.3.3 Determinación de cinéticas de degradación de betalaínas de betabel.....	27
2.3.4 Determinación de las características del extracto estable de betalaínas.....	27
3 RESULTADOS.....	29
3.1 Obtención de extractos de betalaínas de betabel	29
3.2 Determinación de rendimientos, contenido de betalaínas en extractos de betabel y sólidos totales.....	30
3.3 Análisis de estabilidad de betalaínas del betabel	33
3.3.1 Copigmentación y concentración de extractos de betabel	33
3.3.2 Adición de portadores como polímeros a extractos copigmentados y concentrados	35
3.3.3 Determinación de cinéticas de degradación de betalaínas de betabel.....	44
3.3.4 Determinación de las características del extracto estable de betalaínas.....	59
DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	61
CONCLUSIONES	62
FUENTES CONSULTADAS	64

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1 Pigmentos comerciales de betabel.....	9
Tabla 3-1 Rendimiento y contenido de betalaínas en los extractos obtenidos por prensa extracción y molienda de betabel.....	31
Tabla 3-2 Contenido inicial de betalaínas en extractos (mg/L).....	35
Tabla 3-3 Contenido de betalaínas en mg/L del extracto copigmentado concentrado con maltodextrina (ccM), un extracto copigmentado y concentrado (control), un extracto inicial sin ácido y sin concentrar (Bco1), un extracto con portador sin concentrar (Bco2) conservados a 4 y 25°C por 6 meses de almacenamiento	36
Tabla 3-4 Contenido de betalaínas en mg/L del extracto copigmentado concentrado con goma arábica (ccG), un extracto copigmentado y concentrado (control), un extracto inicial sin ácido y sin concentrar (Bco1), un extracto con portador sin concentrar (Bco2) conservados a 4 y 25°C por 6 meses de almacenamiento	37
Tabla 3-5 Contenido de betalaínas en mg/L del extracto copigmentado concentrado con pectina (ccP), un extracto copigmentado y concentrado (control), un extracto inicial sin ácido y sin concentrar (Bco1), un extracto con portador sin concentrar (Bco2) conservados 4 y 25°C por 6 meses de almacenamiento.	38
Tabla 3-6 Contenido de betalaínas en mg/L del extracto copigmentado concentrado con xiloglucano (ccX), un extracto copigmentado y concentrado (control), un extracto inicial sin ácido y sin concentrar (Bco1), un extracto con portador sin concentrar (Bco2) conservados a 4 y 25°C por 6 meses de almacenamiento.	39
Tabla 3-7 Propiedades del extracto estable de betalaínas de betabel.	60

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 Partes principales del betabel (Biancardi et al., 2010)	7
Figura 1.2 (a) Estructura general del ácido betalámico, (b) betacianina, (c) betaxantina (Azeredo et al., 2009).....	11
Figura 1.3 Vías de degradación de betalaínas (Rodríguez-Amaya, 2018).....	17
Figura 2.1 Etapas del método de investigación.....	22
Figura 3.1 Extractos obtenidos por los métodos de prensado (EiP), extractor (EiE) molienda (EiM) de izquierda a derecha.....	29
Figura 3.2 Espectro Uv-vis de un extracto de betabel.....	30
Figura 3.3 Contenido de betaxantinas, betacianinas y total de betalaínas de cada extracto	32
Figura 3.4 a) Extracto sin copigmentar, b) extracto copigmentado con ácido ascórbico.	33
Figura 3.5 Espectro UV-vis de extractos concentrados (Ec) sin copigmentar (a) y copigmentado (Ecc) (b), incluyendo extractos iniciales (Ei) (control) y después de 5 días de almacenamiento (Ec5 y Ecc5).....	34
Figura 3.6 Contenido de betalaínas en los extractos provenientes del método prensa, una vez que fueron copigmentados concentrados con portador y almacenados a 4 y 25°C.	40
Figura 3.7 Contenido de betalaínas en los extractos provenientes del método extractor, una vez que fueron copigmentados concentrados con portador y almacenados a 4 y 25°C.	40
Figura 3.8 Contenido de betalaínas en los extractos provenientes del método prensa, una vez que fueron copigmentados concentrados con portador y almacenados a 4 y 25°C.	41
Figura 3.9 Contenido de betalaínas (mg/L) de los extractos por prensa (EccP), por extractor (EccE) y por molienda (EccM) almacenados por 6 meses a 4°C, de un	

extracto un extracto copigmentado y concentrado (control), un extracto inicial sin ácido y sin concentrar (Bco1), un extracto con portador sin concentrar (Bco2).....	42
Figura 3.10 Contenido de betalaínas (mg/L) de los extractos por prensa (EccP), por extractor (EccE) y por molienda (EccM) almacenados por 6 meses a 25°C, de un extracto un extracto copigmentado y concentrado (control), un extracto inicial sin ácido y sin concentrar (Bco1), un extracto con portador sin concentrar (Bco2).....	43
Figura 3.11 Cinética de un extracto (EccP) desde el tiempo 0 hasta los 6 meses de almacenamiento a 4 y 25°C.....	44
Figura 3.12 Cinética del extracto (EccPM) y el control desde el tiempo 0 hasta los 6 meses de almacenamiento a 4 y 25°C.....	45
Figura 3.13 Cinética del extracto (EccPG) y el control desde el tiempo 0 hasta los 6 meses de almacenamiento a 4 y 25°C.....	46
Figura 3.14 Cinética del extracto (EccPP) y el control desde el tiempo 0 hasta los 6 meses de almacenamiento a 4 y 25°C.....	47
Figura 3.15 Cinética del extracto (EccPX) y el control desde el tiempo 0 hasta los 6 meses de almacenamiento a 4 y 25°C.....	48
Figura 3.16 Cinética de un extracto (EccE) desde el tiempo 0 hasta los 6 meses de almacenamiento a 4 y 25°C.....	49
Figura 3.17 Cinética del extracto (EccEM) y el control desde el tiempo 0 hasta los 6 meses de almacenamiento a 4 y 25°C.....	50
Figura 3.18 Cinética del extracto (EccEG) y el control desde el tiempo 0 hasta los 6 meses de almacenamiento a 4 y 25°C.....	51
Figura 3.19 Cinética del extracto (EccEP) y el control desde el tiempo 0 hasta los 6 meses de almacenamiento a 4 y 25°C.....	52
Figura 3.20 Cinética del extracto (EccEX) y el control desde el tiempo 0 hasta los 6 meses de almacenamiento a 4 y 25°C.....	53

Figura 3.21 Cinética de un extracto (EccM) desde el tiempo 0 hasta los 6 meses de almacenamiento a 4 y 25°C.....	54
Figura 3.22 Cinética del extracto (EccMM) y el control desde el tiempo 0 hasta los 6 meses de almacenamiento a 4 y 25°C.....	55
Figura 3.23 Cinética del extracto (EccMG) y el control desde el tiempo 0 hasta los 6 meses de almacenamiento a 4 y 25°C.....	56
Figura 3.24 Cinética del extracto (EccMP) y el control desde el tiempo 0 hasta los 6 meses de almacenamiento a 4 y 25°C.....	57
Figura 3.25 Cinética del extracto (EccMX) y el control desde el tiempo 0 hasta los 6 meses de almacenamiento a 4 y 25°C.....	58

INTRODUCCIÓN

Debido a que los colorantes sintéticos que acompañan a la mayoría de los alimentos elaborados industrialmente tienen efectos negativos al ambiente y a la salud, se han buscado alternativas de uso de colorantes naturales con el fin de prevenir y disminuir dichos efectos. Sin embargo, los colorantes naturales presentan desventajas de degradación lo cual es un motivo para su estudio. Las betalaínas están conformadas por betacianinas (rojo) y betaxantinas (amarillo). Sin embargo, la degradación de las betacianinas se produce en presencia de oxígeno, agua, exposición a la luz, y un pH $<3 > 7$, provocando con esto el cambio de color de rojo a anaranjado o pérdida completa de color. Por tanto, su vida de anaquel es corta y su uso es restringido en la industria de alimentos.

En base a la problemática planteada, el objetivo de esta investigación fue aplicar y analizar métodos de estabilización de pigmentos naturales para prolongar la vida de anaquel de betalaínas de betabel para considerar su uso como pigmentos naturales. El proyecto es relativo a una industria que produce pigmentos de uso alimenticio, y se encuentra en la búsqueda de la estabilización de betalaínas de betabel para contemplar su producción.

En el marco de la Ingeniería Ambiental, el proyecto es de corte preventivo a la contaminación ambiental, promoviendo propuestas de pigmentos menos dañinos al ambiente.

El proyecto se justifica en dos ejes de investigación. 1) En el aspecto ambiental, se considera significativo contar con un pigmento natural que ofrezca las características que proporciona un colorante sintético, pero sin efectos negativos al ambiente como son la contaminación ambiental y toxicidad. 2) El trabajo aborda un problema industrial para establecer una propuesta de estabilización de betalaínas de una industria en particular.

El trabajo se presenta en tres capítulos el primero referente a los fundamentos en los cuales se rige el documento, un segundo capítulo en el cual se describe la metodología propuesta y por último un tercero en donde se presentan los resultados obtenidos en la presente investigación.

1 FUNDAMENTOS

El color de los productos alimenticios juega un papel vital para atraer los consumidores debido a que representan para éstos su calidad. Sin embargo, en productos elaborados, su color proviene generalmente de la adición de tintes y pigmentos llamados agentes colorantes (Sánchez Juan, 2013), los cuales se emplean para resaltar el color natural de los alimentos y otras para devolver el color perdido en las manipulaciones del proceso para su conservación (Parra y Martínez, 2004). No obstante, el origen de los agentes colorantes es usualmente sintético; por lo que afectan la salud humana y la del ambiente (Kumar et al., 2017).

Los colorantes sintéticos son utilizados en la industria textil, cosmética, farmacéutica alimenticia entre otras, tienen efectos cancerígenos y ambientales ya que generan un gran volumen efluentes coloreados contaminando el medio ambiente principalmente el agua (Tkaczyk et al., 2020). A fin de sustituir los colorantes sintéticos, hoy en día, se ha retomado el uso de pigmentos naturales, con grandes ventajas, como lo es su actividad antioxidante, otras actividades funcionales y grandes beneficios alimenticios (Kumar et al., 2017). La síntesis de pigmentos naturales se ha vuelto de gran importancia en campos como la protección del medio ambiente, ingeniería de materiales y los alimentos, al estar libre de elementos tóxicos, son seguros y ecológicos (Pérez-Ramírez et al., 2015). Esta práctica se ha incrementado en los últimos años, sin embargo, aún sigue siendo limitada debido a su inestabilidad a diversos factores en comparación con los pigmentos sintéticos (Flores et al., 2019).

Los pigmentos naturales se obtienen de diversas fuentes, entre las que se encuentran los vegetales, los cuales ofrecen grandes oportunidades de obtención, debido a su diversidad en la naturaleza. Entre las fuentes de pigmentos naturales más buscados se encuentran aquellas que contienen betalaínas debido al alto poder de tinción que poseen (Román et al., 2014).

Las betalaínas son pigmentos naturales hidrosolubles que proporcionan colorantes rojos y amarillos. Estos pigmentos son particularmente escasos en la naturaleza; se encuentran en la betarraga (*Beta vulgaris L. spp. Vulgaris, betabel*) (Antigo et al., 2017), semillas y hojas de amaranto (*Amaranthus sp.*) (Roriz et al., 2018) y en algunas cactáceas del género *Opuntia* y *Hylocereus*, como la tuna púrpura, las pitayas y pitahayas (Otálora et al., 2019).

Las betalaínas son hidrosolubles, por tanto, se extraen con agua y/o alcohol. Sin embargo, estos pigmentos son inestables frente a factores ambientales como luz, oxígeno, pH y temperatura, entre otros, por lo cual pueden degradarse perdiendo sus atributos de color y capacidad antioxidante.

Para proporcionar estabilización a las betalaínas se han utilizado diferentes métodos entre los que se encuentran la encapsulación con técnicas de polimerización, gelificación iónica, cristalización, liofilización, extrusión, secado por aspersion, y copigmentación entre otras.

A la fecha existen en el mercado productos colorantes referidos al betabel, los cuales se comercializan como betabel en polvo y extracto. Sin embargo, se desconoce el método de obtención y conservación; de acuerdo con la información que existe al respecto, se indica que el betabel es deshidratado y pulverizado, comercializándose como colorante de betabel. Por lo que las investigaciones sobre la obtención de pigmentos de betabel y su conservación continúan en la actualidad. Dentro de las investigaciones recientes se encuentran las siguientes.

Ravichandran et al., (2012) estudió los efectos de diferentes agentes de encapsulación y proceso de secado, sobre la estabilidad del extracto de betalaínas. En su estudio la extracción de betalaínas se realizó con agua destilada y trozos de betabel. Posteriormente se utilizó maltodextrina, goma arábica, pectina, goma guar, y goma xantana, para encapsular las betalaínas mediante secado por liofilización y aspersion. El color se conservó en un 65% utilizando maltodextrina con goma xantana como

encapsulantes y la liofilización como técnica de secado, obteniendo pigmento en polvo. No se indica su vida de anaquel.

Visockis et al. (2021) estudiaron la extracción acuosa de betalaínas de betabel rojo fresco asistida por campo eléctrico pulsante. El método fue eficaz, constituyendo una alternativa a las prácticas convencionales de extracción, con rendimientos del 70%. No se indica su estabilidad ni vida de anaquel.

Gandía-Herrero et al., (2013) analizaron la estabilidad de las betalaínas de betabel encapsulándolas con maltodextrina y quitosano, mediante secado por atomización para obtener un pigmento en polvo. La maltodextrina resultó el agente encapsulante más adecuado para la obtención del pigmento. No se indica su estabilidad ni vida de anaquel.

Attia et al., (2013), estudiaron la estabilización y caracterización de pigmentos rojos extraídos de betabel con respecto a la temperatura y el pH, para establecer su uso potencial como antioxidante y colorante natural. Los autores utilizaron la copigmentación mediante la adición de ácido cítrico y la dextrina como encapsulante y medio de estabilización. El pigmento obtenido presentó estabilidad de pH en un rango de 3 a 7. La temperatura de estabilidad fue de 40-50°C.

La actividad antioxidante se probó en aceite de maíz, resultando un mayor efecto por en comparación con un antioxidante sintético (BHT).

Castro-Muñoz et al., (2015) encontraron que la encapsulación de betalaínas con maltodextrina y gelatina utilizando secado por aspersion es una opción viable para estabilizar el extracto de betalaínas de tuna.

Sánchez-Chávez et al., (2015) revisaron la cinética de degradación térmica de las betacianinas, y las betaxantinas en una bebida de betabel con miel de abeja a 30°C, 40°C y 50°C, se determinaron las constantes de velocidad de degradación para ambos compuestos, encontrando que las betaxantinas tienen mejor estabilidad a la temperatura en comparación con las betacianinas.

Antigo et al. (2017), estudiaron el efecto que tiene el pH en la estabilidad de betalaínas encapsuladas en maltodextrina y goma xantana con secado de liofilización. El rango de estabilidad en pH fue de 3-6, por 7 días de almacenamiento.

Zhao et al., (2020) estudiaron el encapsulamiento de betalaínas de betabel en fibrillas aisladas de proteína de soja, aumentando la resistencia térmica del 55.3% al 75.9%.

Trishitman et al., (2021) evaluaron la estabilidad del pigmento concentrado de betalaínas de betabel en el yogur, con un extracto obtenido con exprimidor agua destilada y centrifugado, la concentración la realizaron con un evaporador y un sistema de osmosis directa, encontrando que la degradación de betalaínas es menor con el proceso de osmosis y mayor con el evaporador por la temperatura, por el método de evaporación las betalaínas son estables en un pH 6 mientras con osmosis de pH 4-6, con almacenamiento de 4°C sin luz por otro lado el yogur fue más estable de osmosis que evaporador 3:1.

Yang et al. (2021) analizaron la estabilidad y el mapeo sensorial de las betalaínas de betabel rojo y las antocianinas de la uva añadidos al jugo de grosella blanca, donde las betalaínas se concentraron y se encapsularon por secado por aspersion con maltodextrina y se agregaron al jugo de grosella, encontrando que las betalaínas se degradan más rápido que las antocianinas y al combinarse se acelera la degradación, la temperatura el factor que más afecta el color, en cuanto al estudio sensorial los agentes prefirieron la antocianina con color rojo a la betalaína de color rosa.

Arthikha y Madhanasundareswari (2019) estudiaron la optimización y análisis de pigmentos de betabel y su aplicación como colorante natural. Encontrando que las betalaínas tienen estabilidad térmica hasta los 110°C, y estabilidad en un rango de pH de 2-9, y que el contenido de betalaínas depende de la forma adecuada de extracción.

Ghasempour et al., (2020) desarrollaron un yogur con goma de semilla de albaca y extracto de betabel, obteniendo como resultado que al añadir 0.4% de goma de semilla de albaca y 0.1% de extracto de betabel existe una mejora en los probióticos, mejor actividad antioxidante, y mejor textura.

Como se puede apreciar el encapsulamiento de betalaínas en diferentes biopolímeros predomina en la exploración de colorantes o pigmentos de betabel, a fin de aportar elementos que incrementen la aplicación de las betalaínas y ampliar su vida de anaquel, por lo que se considera un tema actual y pertinente de investigación.

1.1 Colorantes naturales

Los colorantes naturales pueden ser utilizados en la industria textil, cosmética, farmacéutica y la alimenticia. Son derivados de fuentes naturales tales como vegetales, minerales o animales, insectos y microorganismos (Parra y Martínez, 2004). Actualmente, son preferidos por los consumidores debido a la importancia de la preservación ecológica y su efecto en la salud humana (Yusuf et al., 2017).

Los colorantes naturales se clasifican de diversas formas, una de ellas contempla los colorantes hidrosolubles (curcumina, riboflavina, lactoflavina o B2, rojo carmín, caramelo, antocianinos, betanina o rojo de remolacha), liposolubles (clorofilas carotenoides, xantofilas), y los minerales (carbón vegetal, carbonato cálcico, dióxido de titanio, óxidos e hidróxidos de hierro, aluminio, plata) (Sánchez Juan, 2013).

Basados en su estructura química se clasifican en Índigoides, a base de piridina, carotenoides, quinonoides, flavonoides, a base de dihidropirano, betalaínas, taninas, en tanto por la fuente de producción se clasifican en: origen vegetal, animal o insectos y mineral y por último se clasifican según el método de aplicación en: colorantes mordientes, de tina, directos, ácidos, básicos y dispersos (Yusuf et al., 2017).

1.2 Betabel como fuente de pigmentos naturales

El origen del betabel viene de la remolacha marítima en medio oriente, que se ha extendido desde América hasta Asia y Europa conocido por varios nombres como betarraga y remolacha (Mirmiran et al., 2020).

La remolacha pertenece a la Familia Chenopodiaceae y su nombre científico es *Beta vulgaris* L., variedad cruenta Alef. o *Beta vulgaris* L. spp. vulgaris, var. conditiva Alef.

El betabel es una fuente rica en carbohidratos, vitaminas, minerales, micronutrientes, el crudo contiene 0.27 g/100g de nitrógeno total, 0.1 g/100g de azúcares, 2.8 g/100g de fibra, 7.6 g/100g de carbohidratos y 87.1 g/100g de agua, por otro lado, el extracto de betabel contiene 8°brix de azúcares (Nottingham, 2004), las principales partes del betabel se muestran en la figura 1.1.



Figura 1.1 Partes principales del betabel (Biancardi et al., 2010)

Existe betabel de diferentes colores rojo, amarillo, blanco, y multicolor (Otegbayo et al., 2020). El color característico depende de su contenido en compuestos nitrogenados conocidos como betalaínas (Nottingham, 2004).

El betabel tiene diversos usos en la nutrición humana. En los últimos años ha tenido una atención importante como producto alimenticio funcional, el interés científico es por la composición de los distintos nutrientes y compuestos activos que contiene (Nistor et al., 2017) como antioxidantes que ayuda a prevenir el daño oxidativo a las células, reduciendo así el riesgo de cáncer y enfermedades cardiovasculares.

El betabel no tiene grasa, es bajo en calorías, es buena fuente de fibra, ácido fólico, hierro, potasio, flavonoides, vitamina C, es útil en el tratamiento de varios problemas de salud, como anemia, estreñimiento y hemorroides (Otegbayo et al., 2020; Mirmiran et al., 2020). El extracto de betabel contiene ácido ascórbico, carotenoides, fenólicos y betalaínas (Huma et al., 2020).

Un uso importante del betabel es su aplicación como materia prima con un alto potencial para la obtención de colorantes. La utilización de estos pigmentos naturales ha generado mayor interés, a tal grado que el Codex Alimentarius Commission en el año 2004 autorizó su empleo con el nombre de “rojo remolacha” bajo el código E162, en el cual el colorante principal es la betanina que integra el 75 a 95%, e incluye pequeñas cantidades de betaxantinas. La industria alimenticia y cosmética también se ha beneficiado de este colorante natural, sin embargo, la industria nacional no ha incorporado su uso, por lo que las betalaínas requieren aún mayores estudios para generar propuestas que aporten mayor interés en la promoción, desarrollo e inversión en productos de origen natural.

También la FDA (Foods and Drugs Administration) de Estados Unidos ha admitido al pigmento de remolacha para su uso, comercializándose de tres maneras, como polvo de remolacha, que incluye el pigmento y estabilizantes como azúcares y proteínas y antioxidantes, y como extracto líquido concentrado y seco.

Las betalaínas se obtienen en forma de concentrado o de deshidratado a partir de una extracción acuosa a pH ácido; la purificación de los pigmentos se logra por medio de ultrafiltración y de ósmosis inversa.

Además de los colorantes, el jugo o extracto contiene azúcares, sales y/o proteínas que se encuentran naturalmente en las remolachas. La solución puede concentrarse y algunos productos pueden refinarse a fin de eliminar la mayor parte de los azúcares, sales y proteínas. Los ácidos de grado alimenticio (por ejemplo, cítrico, láctico, ácido L-ascórbico) pueden ser añadidos como agentes de control del pH.

También se pueden agregar estabilizantes y portadores como la maltodextrina, principalmente como ayuda para la fabricación de polvos secos (FAO, 2002).

De la información que existe en la web se indica que la Unión Europea incluye al rojo remolacha dentro de su listado de colorantes permitidos con la aprobación de la FDA para su aplicación en alimentos.

Otra información recolectada sobre los pigmentos de betabel que se encuentran en el mercado está definida en la tabla 1.1 donde se mencionan algunas de sus especificaciones y aplicación, así como el organismo de aprobación de su uso. Sin embargo, no se indican técnicas de estabilización, ni el tiempo de vida de anaquel.

Tabla 1-1 Pigmentos comerciales de betabel

Código de identificación	Forma de Presentación	Organismo de aprobación	Especificaciones	Aplicación
73.40	Polvo	FDA	Betabel deshidratado y pulverizado Materia volátil < 4% Ceniza insoluble en ácido < 5%	Alimentos, cosméticos y fármacos
Rojo Betabel (E-162)	Polvo	FAO/DOF	Extracto de betabel secado por aspersión y pulverizado	Alimentos, cosméticos y fármacos
No identificado	Extracto líquido	FDA	Extracto concentrado de alta viscosidad con 40-60% de sólidos totales	Alimentos, cosméticos y fármacos

Por lo general las tres presentaciones contienen entre 0.3 y 1.0 % de colorantes, dependiendo de la variedad de betabel utilizado, el resto de los concentrados está constituido por azúcares (75-80%), proteína cruda (10 %) y cenizas (8-10%).

A pesar de las limitaciones que presentan las betalaínas debido a su estabilidad, las preparaciones de betabel son usadas para dar color a productos que tengan corto tiempo de almacenamiento, empacados en reducida exposición a la luz, oxígeno y alta humedad, no sean sometidos a largos tratamientos térmicos y, además, sean vendidos en estado seco (Franco, 2004).

1.3.1 Estructura química de las betalaínas del betabel

El betabel contiene betalaínas, las que a su vez contienen dos pigmentos solubles identificados como betanina o betacianina (rojo) y betaxantina (amarillo).

Las betalaínas son consideradas como las de mayor potencial de aplicación comercial pues pueden sustituir a los colorantes sintéticos por su amplia gama de coloración. Se emplean en la elaboración de gelatinas, confituras, yogur de fresa, helados de cremas, cocktails de frutas, caramelos y galletas (González-Sánchez et al., 2010).

El contenido de betacianina varía de 0.04–0.21% y el de betaxantina entre 0.02–0.14%, esto dependiendo del cultivo y variedad de betabel (Zrýd y Christinet, 2004).

Dentro de las betacianinas se encuentran la betanina, isobetanina, betanidina e isobetanidina (Tiwari y Cullen, 2012). En cuanto a la betaxantina, se encuentran la vulgaxantina I y vulgaxantina II (Azeredo et al., 2009).

La betanina, se ha utilizado como modelo para la determinación de la estructura y vía biosintética de las betalaínas.

Específicamente la betacianina del betabel no se ve afectado por ácidos monocarboxílicos como el ácido láctico y ácido acético a concentraciones de 100 ppm y 5.9

% respectivamente; sin embargo, los cationes metálicos, principalmente el cobre, aceleran su degradación (González-Sánchez et al., 2010).

El término betalaína se origina del nombre latino de raíz de remolacha o betabel (*Beta vulgaris*), de donde se extrajeron las betalaínas por primera vez (Tiwari y Cullen, 2012). Las betalaínas son pigmentos solubles en agua y contienen nitrógeno en su estructura; se sintetizan a partir del aminoácido tirosina (Azedero et al., 2009). Hasta la fecha, las betalaínas comprenden aproximadamente 55 estructuras, incluidas las betacianinas de rojo-violeta y betaxantinas amarillo-naranja (Tiwari y Cullen, 2012).

Un ejemplo de la estructura de las betalaínas se muestra en la figura 1.2, donde se observa la presencia de nitrógeno en las betacianinas y betaxantinas, motivo por el cual anteriormente eran llamadas antocianinas nitrogenadas, por tener la misma estructura que las antocianinas, pero con nitrógeno. La característica común de todas las betalaínas es también la presencia del cromóforo de ácido betalámico (Zrýd y Christinet, 2004).

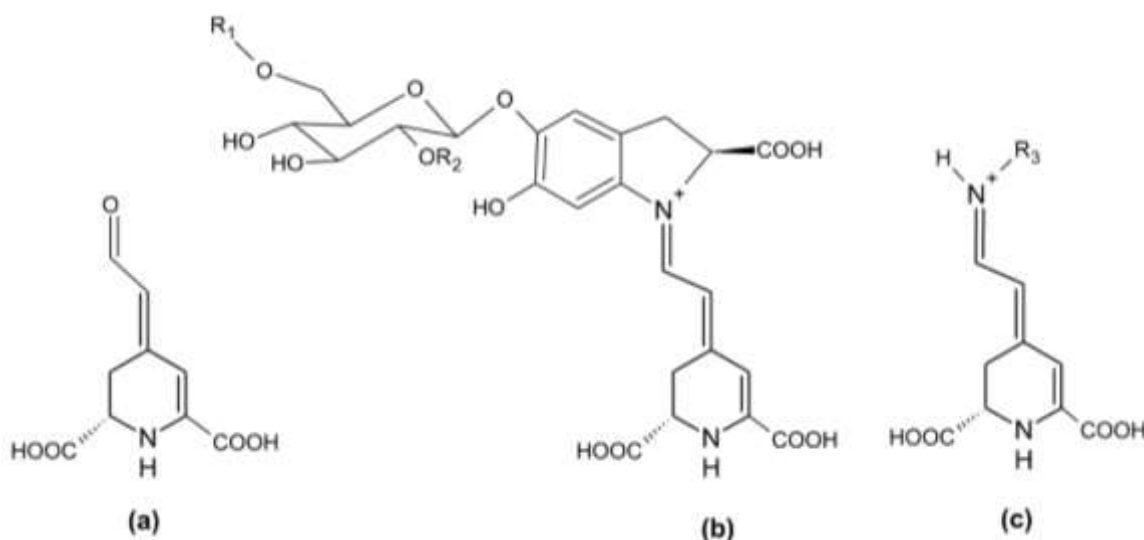


Figura 1.2 (a) Estructura general del ácido betalámico, (b) betacianina, (c) betaxantina (Azedero et al., 2009).

Las betaxantinas son responsable de los fuertes colores amarillo o amarillo-naranja de las betalaínas; resulta del sistema de resonancia inducido por la presencia de tres dobles enlaces conjugados. Se forman por la condensación de un aminoácido o una amina con el grupo aldehído del ácido betalámico, lo que resulta en una base. Su máximo de absorbancia está entre 470-486 nm (Zrýd y Christinet, 2004) y puede incluir al color amarillo limón (424 nm) (Azeredo et al., 2009, Polturak & Aharoni, 2018)

Las betacianinas se forman, de una unidad de ácido betalámico unida a una molécula de ciclo-DOPA (ciclo-3,4-dihidroxifenilalanina) (Rodríguez-Amaya, 2018), esta última estructura altamente aromática es responsable del color violeta intenso de este pigmento; la estructura aromática también induce un fuerte desplazamiento de batocromo de 60-70 nm (534-554 nm). Las estructuras básicas de betacianina y betaxantina pueden modificarse de numerosas maneras (Azeredo et al., 2009, Polturak & Aharoni, 2018)

Las fuentes conocidas para su obtención son la remolacha roja y amarilla (*Beta vulgaris L. ssp. Vulgaris*), acelgas de color (*Beta vulgaris L. ssp. Cicla*), amaranto (*Amaranthus sp*) y frutos de cactus como los del género *Opuntia* (Azeredo et al., 2009).

Particularmente el betabel o remolacha roja contienen de 30 a 60 mg/100 g de peso fresco, la tuna contiene hasta 9 mg/100 g de fruta fresca, pitaya 0.23 mg/0.39 g, la acelga contiene 51.1 mg/100 g de fruta fresca, los tubérculos de piel roja contienen principalmente betaxantinas desde 41.2 hasta 70.4 mg/100 g de fruta fresca y el amaranto de 46 a 199 mg /100 g de fruta fresca (Tiwari y Cullen, 2012).

1.3.2 Factores que influyen en la estabilidad de las betalaínas

Las betalaínas por naturaleza son inestables debido a su pronta degradación, lo cual constituye por lo que tienen presencia en la industria limitada ocasionando una desventaja para su comercialización (Rodríguez-Amaya, 2018). La causa, son los

diferentes factores ambientales y aquellos a los que se expone cuando es utilizado en la elaboración de productos alimenticios (Flores et al., 2019.)

La estabilidad de las betalaínas ha sido estudiada en pigmentos obtenidos de Remolacha (Betabel), en betalaínas de tuna púrpura y en betalaínas de amaranto (Robert et al., 2015). Los principales factores que afectan la estabilidad de las betalaínas son la temperatura, el pH, actividad de agua, luz, presencia o ausencia de oxígeno y de metales, así como la acción enzimática (Flores et al., 2019).

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 (Flores et al., 2019). Las betalaínas tienen mayor estabilidad a 4°C (González-Sánchez et al., 2010). La degradación de las betalaínas debido a la temperatura sigue una cinética de reacción de primer orden. Al calentar soluciones de betanina se produce una reducción gradual del color rojo característico de este pigmento con la aparición de pardeamiento (Robert et al., 2015).

Con respecto al pH, las betalaínas son estables en el rango entre 3.5-7, rango en el que se encuentran la mayoría de los alimentos, fuera de este rango el color decrece. El pH óptimo para la estabilidad de las betalaínas de betabel, en presencia de oxígeno se encuentra a pH 5.5-5.8, mientras que en condiciones anaeróbicas a pH 4.0-5.0 (Robert et al., 2015). Las betacianinas se consideran con mayor estabilidad a pH ácido, mientras que las betaxantinas son más resistentes en medios neutros (Flores et al., 2019).

La actividad de agua (a_w), también influye en la estabilidad de las betalaínas, estas presentan mayor estabilidad en alimentos o sistemas modelo con un bajo contenido de humedad y a_w , debido a que el agua está menos disponible para que ocurran reacciones químicas. Valores de a_w por debajo de 0.63 mejoran la estabilidad de la betanina de Betabel (Robert et al., 2015). La estabilidad de estos compuestos aumenta

cuando se utilizan métodos para reducir la a_w , como la liofilización y el secado por atomización o aspersión (Flores et al., 2019).

La luz, también es un factor que influye en la degradación de betalaínas. La mayor estabilidad de las betalaínas se encuentra en ausencia de luz ya que mientras incrementa el tiempo de almacenamiento expuesto a la luz disminuye la concentración de betalaínas (González-Sánchez et al., 2010). La luz de diferentes longitudes de onda puede causar un efecto aditivo de color en las betalaínas como la luz azul en combinación con la luz infrarroja inducen a una mayor acumulación de betacianinas (Flores et al., 2019).

La degradación de betalaínas con luz visible sigue una cinética de primer orden que es oxígeno dependiente, ya que los efectos de la exposición a la luz son insignificantes bajo condiciones anaerobias (Robert et al., 2015).

Otro factor que influye en la degradación de betalaínas es el oxígeno. En betalaínas de betabel, estas reaccionan con el oxígeno molecular, causando el oscurecimiento del producto y la pérdida del pigmento. La estabilidad de la betanina disminuye linealmente con el aumento en la concentración de oxígeno siguiendo una cinética de primer orden en presencia de oxígeno, pero en ausencia de oxígeno su comportamiento se desvía de este modelo. Se ha recomendado que para aumentar la estabilidad del pigmento es necesario colocar las muestras en atmósferas con bajas concentraciones de oxígeno, incorporando antioxidantes o utilizando atmósferas con nitrógeno (Robert et al., 2015). Se ha encontrado que los niveles bajos de oxígeno favorecen la recuperación del pigmento después de sufrir dicha degradación (Flores et al., 2019).

La presencia de metales como el cobre, hierro, aluminio y estaño también afectan la estabilidad de la betalaínas acelerando la pérdida de su color. La actividad enzimática es otra causa de inestabilidad de los compuestos betalámicos, y se refiere a la inactivación inadecuada de enzimas tales como las glucosidasas, polifenoloxidasas y peroxidadasas. 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 betalainas y por consiguiente la decoloración de los compuestos betalámicos (Flores et al., 2019).

1.3.3 Mecanismos de degradación de las betalainas

El mecanismo de degradación de betacianinas se ha descrito especialmente para la betanina. La Figura 1.3 muestra las posibles vías de degradación de betanina, asociando los productos de degradación con el color que presenta cada compuesto (Robert et al., 2015).

Los mecanismos de degradación que se han descrito son debido a: a) isomerización, b) descarboxilación, c) desglicosilación, d) deshidrogenación y e) hidrólisis (Rodríguez-Amaya, 2018), las cuales se describen a continuación.

1. La isomerización se considera una modificación estructural más que una reacción de degradación. Las betacianinas están siempre acompañadas de su isómero en relaciones variables dependiendo del tipo de fuente. La betanina se isomeriza en el carbono C15 a isobetanina, la cual presenta propiedades cromáticas idénticas a la betanina. Se ha observado que la isomerización se produce en condiciones ácidas, alcalinas y en tratamientos térmicos. El ácido betalámico y la indicaxantina son susceptibles a isomerización y la indicaxantina también es susceptible a epimerización en C11 (Azeredo et al., 2009, Robert et al., 2015, Rodríguez-Amaya, 2018).

2. La descarboxilación puede ocurrir en los carbonos C2, C15 y C17 de las betacianinas y en los carbonos C11 y C13 de las betaxantinas. La descarboxilación produce un desplazamiento hipocrómico, que puede ser explicado por una disminución en la deslocalización de los electrones. Varios estudios han corroborado que la betanina puede ser descarboxilada en las posiciones C2, C15 y/o C17. No obstante, cuando la descarboxilación ocurre en C2 y C15 se puede considerar una ventaja ya

que se mantienen las características cromáticas de su precursor, la betanina; mientras que cuando ocurre en el C17 esas características cambian de coloración (rojo-anaranjado) (Azeredo et al., 2009, Robert et al., 2015, Rodríguez-Amaya, 2018). El ácido betalámico (amarillo brillante) y ciclodopa-5-O-glucosido (sin color) son productos resultantes de la descarboxilación de betanina durante tratamientos térmicos (Flores et al., 2019).

3. La desglicosilación ocurre bajo condiciones fuertemente ácidas, altas temperaturas y presencia de β -glucosidasa. La molécula de glucosa puede separarse de la betanina, provocando un desplazamiento batocrómico cercano a 4 nm, obteniéndose un color rojo violeta profundo por la formación de una aglicona de menor estabilidad dada su mayor susceptibilidad a la oxidación (Robert et al., 2015, Rodríguez-Amaya, 2018).

4. Las reacciones de deshidrogenación de betacianinas generan el compuesto llamado neobetanina que se caracteriza por ser de color amarillo. La formación de neobetanina se ha confirmado en jugo de betabel sometido a un tratamiento térmico bajo condiciones anaeróbicas (Azeredo et al., 2009, Robert et al., 2015, Rodríguez-Amaya, 2018).

5. La hidrólisis de la betanina se produce por la ruptura hidrolítica del enlace aldimina, esta ruptura se ha observado en tratamientos térmicos y en condiciones de pH superiores a 6. La hidrólisis de la betanina disminuye la intensidad del color, debido a que la ruptura de la betanina genera ácido betalámico (amarillo brillante) y ciclo-Dopa-5-O- β -glucósido (incolora). La ruptura del enlace aldimina es reversible con una condensación de base de Schiff y pH dependiente (reacción favorecida a pH 6). Se ha observado recondensación de ácido betalámico y ciclo-Dopa a betanina después de cortos tratamientos térmicos (bajas temperaturas) (Azeredo et al., 2009, Robert et al., 2015, Rodríguez-Amaya, 2018).

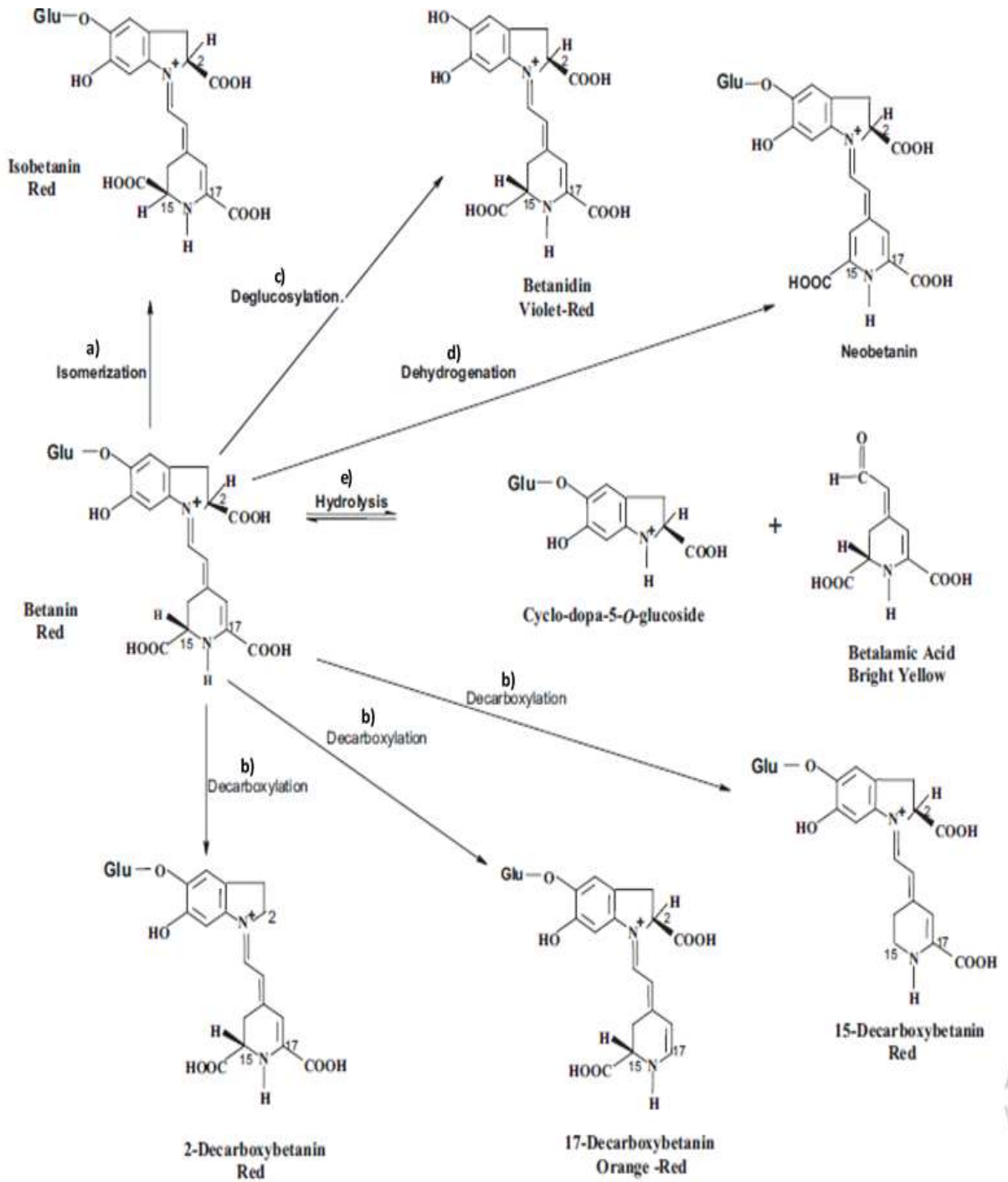


Figura 1.3 Vías de degradación de betalainas (Rodríguez-Amaya, 2018).

1.4 Técnicas de estabilización de betalaínas

Dentro de las técnicas de estabilización de las betalaínas, se encuentra la copigmentación, la cual consiste en la autoasociación o ensamble de betalaínas, por pérdida de agua, para lo cual se utiliza congelamiento, evaporación o separación por osmosis inversa.

La copigmentación también se puede presentar por la adición de ciertos compuestos como ácidos orgánicos formando complejos, o bien portadores como la maltodextrina, lo cuales le proporcionan estabilidad a la molécula de betalaínas.

La copigmentación se puede acompañar de un incremento en el color (efecto hiperocrómico); produciendo un aumento de la intensidad del color, y estabilizando la molécula (Saldaña, 2004) ante factores como temperatura, luz y oxígeno (Flores et al., 2019).

También las betalaínas se pueden encapsular para su estabilización, la cual se define como un proceso mediante el cual las betalaínas se recubren con una película delgada de un material protector denominado agente encapsulante (Parra-Huertas, 2011; Arrazola et al., 2014; Flores-Belmont y Jiménez-Munguía, 2013; Gallo-Nunura y Cevallos-Vera, 2014; Manjunatha y Raju, 2015; Diaz et al., 2017).

Existe una gran variedad de técnicas para encapsulación, siendo clasificadas como químicas y físicas o mecánicas (Guevara-Breton y Jimenez-Munguia, 2008).

Entre los métodos químicos se encuentran la polimerización interfacial, polimerización in situ, gelificación iónica, cristalización, coacervación compleja, incompatibilidad polimérica y atrapamiento de liposomas (Pedroza-Islas, 2002; Azeredo, 2005,2009; Flores-Belmont y Jiménez-Munguía, 2013).

Dentro de las técnicas físicas o mecánicas están el secado en lecho fluidizado, extrusión, liofilización y secado por atomización (Madene et al., 2006), siendo estas últimas las más utilizadas (Azeredo, 2005; Azeredo et al., 2009; Oberoi y Sogi, 2015; Araujo-Diaz et al., 2017; Shaaruddin et al., 2017; Shishir y Chen, 2017).

1.4.1 Copigmentación

Existen 2 tipos de copigmentación. La copigmentación intermolecular e intramolecular que se presenta por la adición de compuestos que forman complejos con la molécula pigmentada. Generalmente se presenta con la adición de agentes de copigmentación como son algunos ácidos orgánicos, flavonoides, alcaloides, aminoácidos, y nucleótidos, así como las mismas moléculas pigmentadas (Darias-Martín et. al., 2001), formando en este caso, una mayor concentración de moléculas pigmentadas y un incremento en la estabilización. En la intermolecular, la asociación entre las moléculas pigmentadas con dichos agentes es débil.

En la copigmentación intramolecular, la molécula de interés forma enlaces fuertes con los agentes de copigmentación que tenga unidos.

En ambos casos, la copigmentación produce un incremento en la intensidad de color debido a la formación de agregados o complejos coloridos, provocando interacciones hidrofóbicas que protegen los cromóforos contra el ataque nucleofílico del agua, y desplazan al mismo tiempo el equilibrio total entre las formas coloridas e incoloras, hacia las formas coloridas.

El otro proceso de copigmentación se realiza por la concentración de las moléculas pigmentadas provocando la polimerización de las moléculas de interés. En el caso de las betalaínas, al concentrar los extractos de betabel, las betalaínas se polimerizan con ellas mismas, y con otros compuestos fenólicos, proteínas, y polisacáridos aumentando su estabilidad (Pedroza-Islas, 2002, Parra R. A. 2011).

1.4.2 Agentes portadores y encapsulantes

Se ha estudiado una gran variedad de materiales portadores de pigmentos para aplicaciones en alimentos, sin embargo, es importante considerar características como la solubilidad en agua, permeabilidad, facilidad de aplicación, baja viscosidad en soluciones concentradas y naturaleza hidrofóbicas o hidrofílicas de los mismos. Todos

estos factores influirán en las características del producto final (Alpizar-Reyes et al., 2019).

Como materiales portadores se han utilizado: carbohidratos (almidones de diferentes fuentes: papa, arroz, maíz, entre otros), maltodextrinas de diferente equivalente de dextrosa (ED), ciclodextrinas, carboximetilcelulosa; proteínas, gelatina, caseinatos, aislado proteico de soja, suero de leche, zeína y aislado proteico de suero, grasas, gomas (goma arábrica, goma mezquita); alginato de sodio, carragenina, quitosano, pectina y otros polisacáridos. En general, estos agentes portadores también se utilizan como encapsulantes ya que han mostrado una función protectora sobre el agente activo contra el daño oxidativo, siendo la estabilidad del activo dependiente del tipo de agente encapsulante (Robert et al., 2015).

1.6 Métodos de identificación y cuantificación de betalaínas

En cuanto a los métodos para identificar las betalaínas se encuentran las técnicas de espectrofotometría UV-Visible, cromatografía en capa fina (CCF), cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). De las cuales se obtienen lecturas de espectros de absorción de la muestra. Con el espectrofotómetro UV-vis en un barrido de 200 nm a 600nm se pueden observar picos de absorbancia que corresponden a pigmentos amarillos (betaxantinas 476 nm) y rojos (betacianinas 536 nm). En la CCF en un barrido de 270 nm a 700 nm se encuentran espectros de absorbancia máxima en 476 nm y Rf de 0.50 y para 536 nm y Rf de 0.4. En el análisis de HPLC se detectan los diferentes picos de absorbancia según la lectura que se realice, a 476 y 536, se pueden observar más de un pico de absorción y esto son los diferentes tipos de betacianinas o betaxantinas están presentes en una muestra (Soriano-Santos et al., 2007).

Para cuantificar las betalaínas se utiliza la ecuación 1.1 (Stintzing et al., 2005).

$$BC \left[\frac{mg}{L} \right] = A * DF * MW * \frac{1000}{E * l} \quad (1.1)$$

Donde:

BC=contenido de pigmento.

A= absorbancia λ_{\max} 538 nm para betacianinas y 480 nm de para betaxantinas.

DF= factor de dilución.

MW= peso molecular 550 g/mol para betacianinas y 308 g/mol para betaxantinas.

E=coeficiente de extinción molar $60000 \frac{L}{mol*cm}$ en H₂O para betacianinas y $48000 \frac{L}{mol*cm}$ en H₂O para betaxantinas.

l= longitud de celda en cm.

2 MÉTODO

Las etapas de la metodología y su secuencia de la presente investigación se indican en la figura 2.1 y enseguida se desglosa cada una de ellas

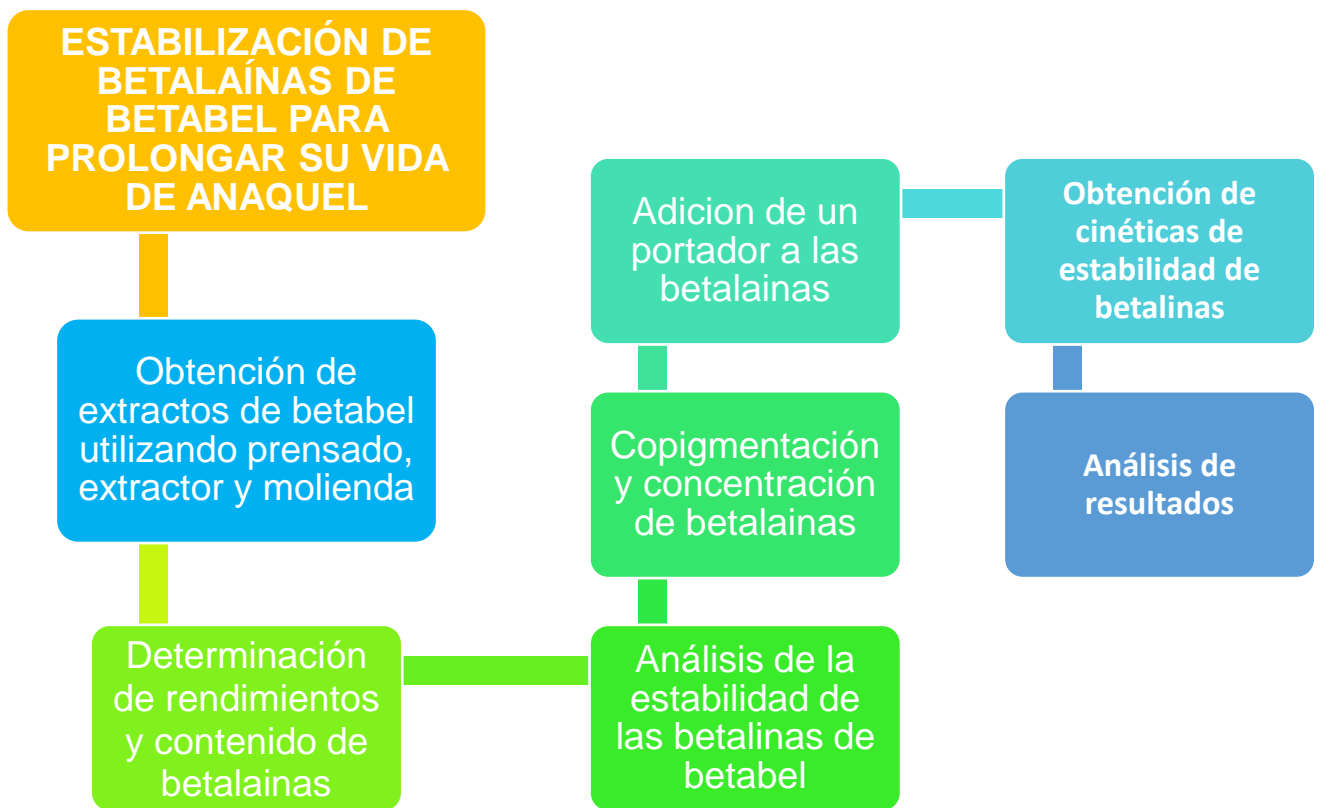


Figura 2.1 Etapas del método de investigación

2.1 Obtención de extractos de betalaínas de betabel

Las muestras de betabel fueron proporcionadas por una empresa del Estado de México interesada en el proyecto planteado en esta investigación.

Los betabeles se lavaron y fueron almacenados en bolsas de plástico por 5 unidades y se sometieron a congelación hasta su uso.

Del betabel crudo y descongelado se obtuvieron extractos (jugos) mediante 1) prensado de porciones de betabel, 2) uso de un extractor, y 3) molienda en licuadora de porciones de betabel.

El extracto proveniente de extractor y prensa se obtuvo haciendo pasar porciones de betabel por el extractor y prensa para obtener el jugo, tomando como referente 500 g de betabel.

En cuanto al procedimiento de molienda, el betabel se molió con agua destilada a 60°C en una licuadora utilizando 500 g de betabel y 500 mL de agua.

Para eliminar fibra y sólidos de los extractos de betabel, éstos se filtraron mediante papel filtro y posteriormente se utilizó una cama filtrante de tierra diatomea preparada al 50% p/v.

Los extractos obtenidos fueron identificados como extracto inicial prensa (EiP), extracto inicial extractor (EiE) y extracto obtenido de molienda (EiM).

2.2 Determinación de rendimientos, contenido de betalaínas en extractos de betabel y sólidos totales

De cada método se determinó el rendimiento obtenido de extracto, mediante las ecuaciones 2.1 y 2.2 y tomando como base 500 g de betabel utilizada para obtener un volumen o masa de extracto.

$$\text{Rendimiento} \left[\frac{\text{ml}}{\text{g}} \right] = \frac{V}{m} = \text{mL/g} \quad (2.1)$$

Donde:

V= volumen del extracto en [mL].

mi = peso de muestra inicial en [g].

$$\text{Rendimiento} \left[\frac{\text{g}}{\text{g}} \right] = \frac{me}{m} = \text{g/g} \quad (2.2)$$

Donde:

me= peso del extracto en [g].

m= peso de muestra inicial en [g].

La cuantificación de betalaínas en extractos de betabel se llevó a cabo mediante espectrofotometría UV-VIS, considerando las bandas de absorción a dos longitudes de onda: 538 nm para betacianinas y 480 para betaxantinas.

La suma de ambas concentraciones proporcionó la concentración de betalaínas.

Para el cálculo de betaxantinas o betacianinas se utilizó la ecuación 2.3 (Stintzing et al., 2005).

$$BC \left[\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right] = \left(A * DF * MW * \frac{1000}{E * l} \right) \quad (2.3)$$

Donde:

BC=contenido de betalaínas o betaxantinas en los extractos

A= absorbancia λ_{max} 538 nm para betacianinas y 480 nm de para betaxantinas.

DF= factor de dilución.

MW= peso molecular 550 g/mol para betacianinas y 308 g/mol para betaxantinas.

E=coeficiente de extinción molar $60000 \frac{L}{mol*cm}$ en H₂O para betacianinas y $48000 \frac{L}{mol*cm}$ en H₂O para betaxantinas.

l= longitud de celda en cm.

El factor de dilución se calculó con la ecuación 2.4

$$FD = \frac{V_f}{V_a} \quad (2.4)$$

Donde:

V_f= volumen final de solución

V_a= volumen de alícuota a diluir

La determinación de sólidos totales se realizó utilizando la ecuación 2.6

$$ST \left[\frac{mg}{L} \right] = \frac{(P_2 - P_1) * 1000}{V_0} \quad (2.6)$$

P₁= peso de capsula vacía [mg].

P₂= peso de capsula con muestra seca [mg].

V₀= volumen de muestra [1mL].

2.3 Análisis de la estabilidad de betalaínas en extractos de betabel

Para analizar la estabilidad de betalaínas se utilizaron dos métodos subsecuentes

- 1) Copigmentación de betalaínas
- 2) Adición de un portador a extractos copigmentados

2.3.1 Copigmentación de betalaínas en extractos de betabel

La copigmentación de las betalaínas se llevó a cabo utilizando dos métodos subsecuentes 1) mediante la adición de ácido ascórbico (5% p/v) (previo estudio) utilizando agitación por 30 min. Posteriormente el extracto copigmentado mediante 2) la concentración del extracto a través de la eliminación de agua, utilizando un rota evaporador IKA RV10 basic a 100 a rpm y 40°C hasta eliminar el 80 % de agua en cada extracto.

Los productos obtenidos fueron identificados como extractos copigmentado y concentrado (Ecc), de prensa (EccP), de extractor (EccE) y extracto obtenido de molienda (EccM).

De cada extracto se determinaron betalaínas mediante el método descrito en el apartado 2.2 de este trabajo. Como blanco se tomaron muestras de extracto sin copigmentar y sin concentrar.

2.3.2 Adición de portadores a extractos copigmentados

Una vez que los extractos fueron copigmentados se adicionó un portadores de tipo polisacárido a los extractos concentrados, considerando pectina, maltodextrina, goma arábica y xiloglucano, con el objetivo de conservar las betalaínas en almacenamiento.

La maltodextrina y goma arábica se adicionaron en una relación del 0.5% p/v de extracto y el xiloglucano y pectina fue al 0.1% p/v.

La mezcla fue agitada a temperatura ambiente en un baño ultrasónico por 40 minutos.

Bajo las condiciones de copigmentación, concentración y adición de portadores, los productos fueron identificados como sigue. Extractos de prensa con maltodextrina (EccPM), con goma arábica (EccPG), con pectina (EccPP), con xiloglucano (EccPX).

Extractos de extractor con maltodextrina (EccEM), con goma arábica (EccEG), con pectina (EccEP), con xiloglucano (EccEX). Extractos de molienda con maltodextrina (EccMM), con goma arábica (EccMG), con pectina (EccMP), con xiloglucano (EccMX).

Los productos fueron almacenados a 4°C y 25°C para determinar el efecto de la temperatura de almacenamiento durante 6 meses

El experimento se llevó a cabo en dos repeticiones por cada muestra y considerando muestras individuales para su análisis.

El análisis realizado consistió en la determinación de betalaínas y coloración de las muestras. En este caso se utilizó como blanco un extracto inicial sin copigmentar y sin concentrar (Bco1), un extracto con portador sin concentrar (Bco2), y como control un extracto copigmentado y concentrado.

2.3.3 Determinación de cinéticas de degradación de betalaínas de betabel

Las cinéticas de degradación de las betalaínas se obtuvieron mediante un seguimiento de 6 meses midiendo la concentración de betalaínas que contenía cada extracto y graficando las concentraciones obtenidas durante el seguimiento.

2.3.4 Determinación de las características del extracto estable de betalaínas

Una vez analizados todos los extractos obtenidos, se determinó cuál de los extractos fue el más estable y sobre este se determinaron las características fisicoquímicas, como nitrógeno total con el método Kjeldahl, proteína, azúcares y sólidos totales, incluyendo el contenido de betalainas.

Para el cálculo de proteína se utilizó el factor para vegetales (6.25). Se calcularon los STD con la metodología antes mencionada.

Los azúcares se obtuvieron mediante un refractómetro digital de mano OPTI (Bellingham Stanley).

Para determinar la estabilidad térmica, el extracto se calentó hasta su degradación midiendo la temperatura con un termómetro.

Para el pH óptimo se agregó ácido e hidróxido según el caso al extracto y se fue determinando el pH con un potenciómetro (Ohrus).

3 RESULTADOS

Los resultados obtenidos se muestran a continuación, tomando como referencia la metodología propuesta.

3.1 Obtención de extractos de betalaínas de betabel

En la figura 3.1 se muestran los extractos crudos obtenidos por cada método utilizado, donde se observa que los extractos provenientes de prensa y extractor muestran una mayor intensidad de color, mientras que el obtenido por molienda presenta menos intensidad, lo cual es de esperarse debido a que este extracto fue obtenido con agua, y por tanto su coloración disminuye.



Figura 3.1 Extractos obtenidos por los métodos de prensado (EiP), extractor (EiE) molienda (EiM) de izquierda a derecha.

3.2 Determinación de rendimientos, contenido de betalaínas en extractos de betabel y sólidos totales.

Con respecto a la figura 3.2 el espectro Uv-Vis, éste muestra dos bandas, una en 480-483 nm correspondiente a betaxantinas y otra en 530-532 nm correspondiente a betacianinas y ambas representan el contenido total de betalaínas en el betabel.

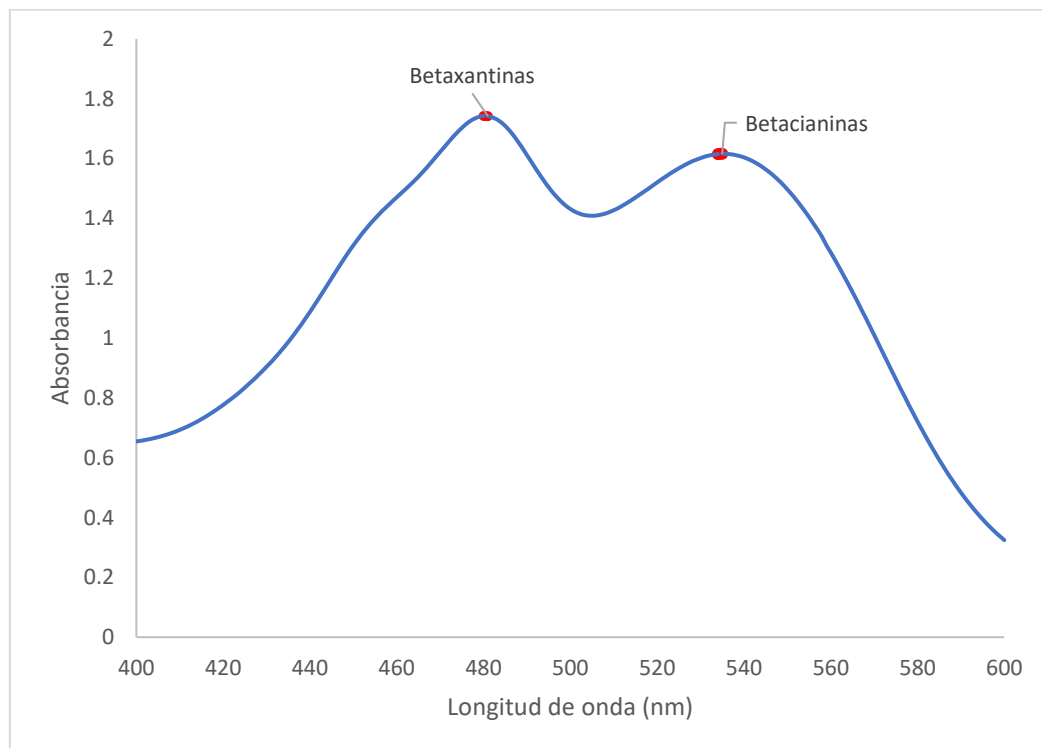


Figura 3.2 Espectro Uv-vis de un extracto de betabel

En la tabla 3-1 se presentan los datos obtenidos de rendimiento y contenido de betalaínas (betal), distinguiendo entre betaxantinas (betax) y betacianinas (betac) de extractos crudos (sin copigmentación y concentración).

En general, los datos de la tabla 3-1 indican que los extractos crudos contienen impurezas (sólidos suspendidos) como azúcares, fibra y otras sustancias disueltas y

suspendidas, lo cual causa un efecto hipercromático en los espectros indicando un mayor contenido de betalaínas (betal), dadas como betaxantinas (betax) y betacianinas (betac), lo cual se disminuye una vez que los extractos se filtran.

Tabla 3.1 Rendimiento y contenido de betalaínas en los extractos obtenidos por prensa extracción y molienda de betabel.

Método de extracción	Rendimiento (mL/500 g)	Sólidos totales (mg/L)	Contenido de betalaínas en extractos					
			Crudo(mg/L)			Filtrado (mg/L)		
			Betax	Betac	Betal	Betax	Betac	Betal
EiP	147	94733	447	593	1040	392.3	522.2	914.5
EiE	131	94600	696	897	1592	489.7	633.6	1123.3
EiM	276	44000	223	319	541.8	154.7	230.1	384.8

Por otro lado, la tabla 3.1 muestra que el mayor rendimiento en volumen de extracto se obtiene con el método de molienda de betabel. Sin embargo, también este extracto presenta el menor contenido de betalaínas, (debido a que se utiliza agua para la obtención del extracto). Este mismo comportamiento se observa en los extractos filtrados.

Por el contrario, el mayor contenido de betalaínas se presentó en los extractos provenientes de extractor, seguido por los provenientes del prensado. En este caso, la diferencia entre betalaínas en los extractos se atribuye a que el obtenido con extractor contiene mayor cantidad de azúcares y posiblemente otros componentes disueltos que contribuyen al efecto hipercrómico en las betalaínas.

El contenido de betaxantinas, betacianinas y el total de betalaínas se puede observar en la figura 3.3, donde se confirma que el mayor contenido de betalaínas se obtiene de extractos de prensado y extractor.

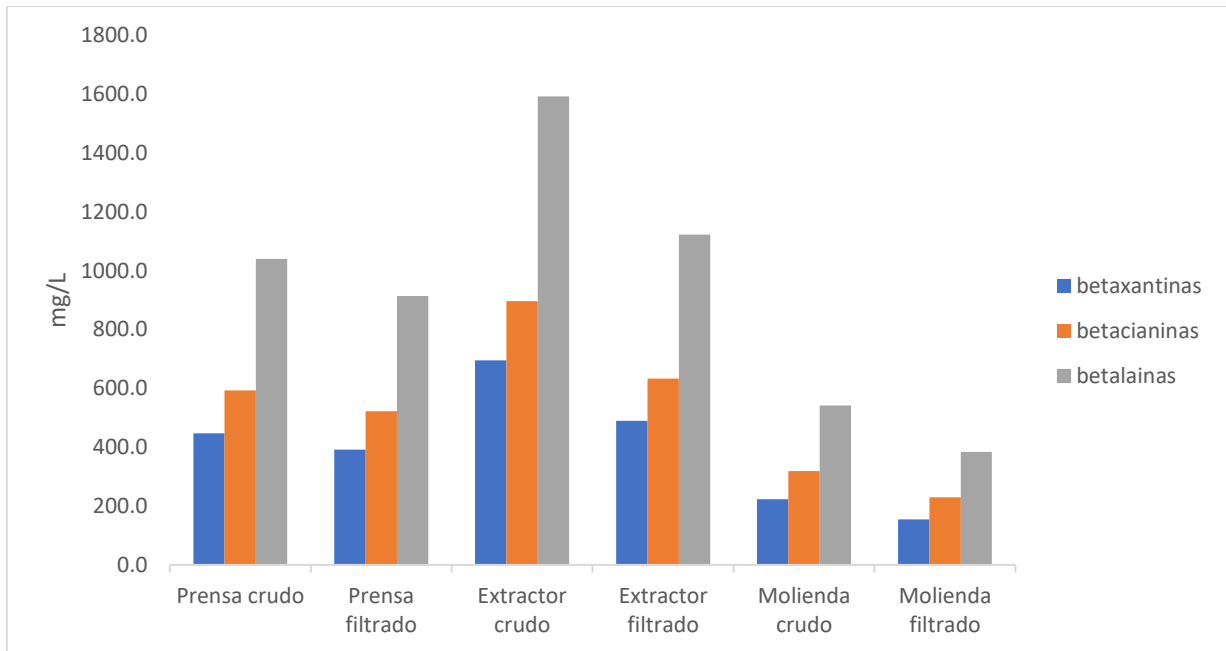


Figura 3.3 Contenido de betaxantinas, betacianinas y total de betalainas de cada extracto

En la tabla 3.1 también se muestran los resultados obtenidos de sólidos totales disueltos, de los extractos obtenidos por los diferentes métodos, donde se puede observar que los sólidos contenidos en el extracto por prensa son mayores por 133 mg/L que el de extractor, por lo que se considera que son 99.9% iguales, sin embargo, el de molienda contiene tan solo el 45% de estos, esto es debido a que a este método se le agrega agua, cabe mencionar que estos sólidos seguramente se tratan de azúcares en todos los casos.

3.3 Análisis de estabilidad de betalaínas del betabel

3.3.1 Copigmentación y concentración de extractos de betabel

En la figura 3.4 se presenta una imagen de un extracto sin copigmentar concentrado y otro copigmentado con ácido ascórbico y concentrado. En este caso se observa cambio de coloración ligero, con tintes violeta en el extracto copigmentado.

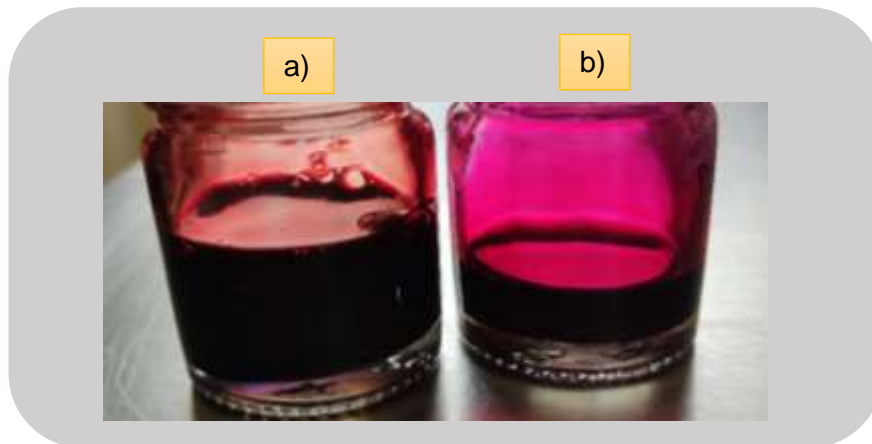


Figura 3.4 a) Extracto sin copigmentar, b) extracto copigmentado con ácido ascórbico.

En la figura 3.5 se muestran el espectro Vis del extracto copigmentado y concentrado después de 5 días de almacenamiento (izquierda), incluyendo el blanco consistente en un extracto concentrado sin copigmentación (derecha). En cada espectro se incluyen las curvas de los extractos iniciales (Ei), después de la concentración (Ec) y después de 5 días de almacenamiento (Ec5).

El espectro del extracto inicial (Ei) para ambos tipos de extractos concentrados Ec y Ecc presentan las bandas correspondientes a las betaxantinas y betacianinas a 450 y 540 nm respectivamente en ambos espectros (a y b). Sin embargo, el espectro (a) correspondiente a extractos sin copigmentación, muestran que al finalizar la concentración el extracto Ec sufre pérdida de betacianinas pertenecientes al color rojo, observándose un cambio de coloración amarillo en el extracto, con un incremento aparente de betaxantinas (450 nm), lo cual se atribuye al efecto de la temperatura

utilizada durante la concentración (40°C). Por otro lado, después de 5 días, este extracto, aún después de concentrado presenta degradación total con pérdida de betalainas.

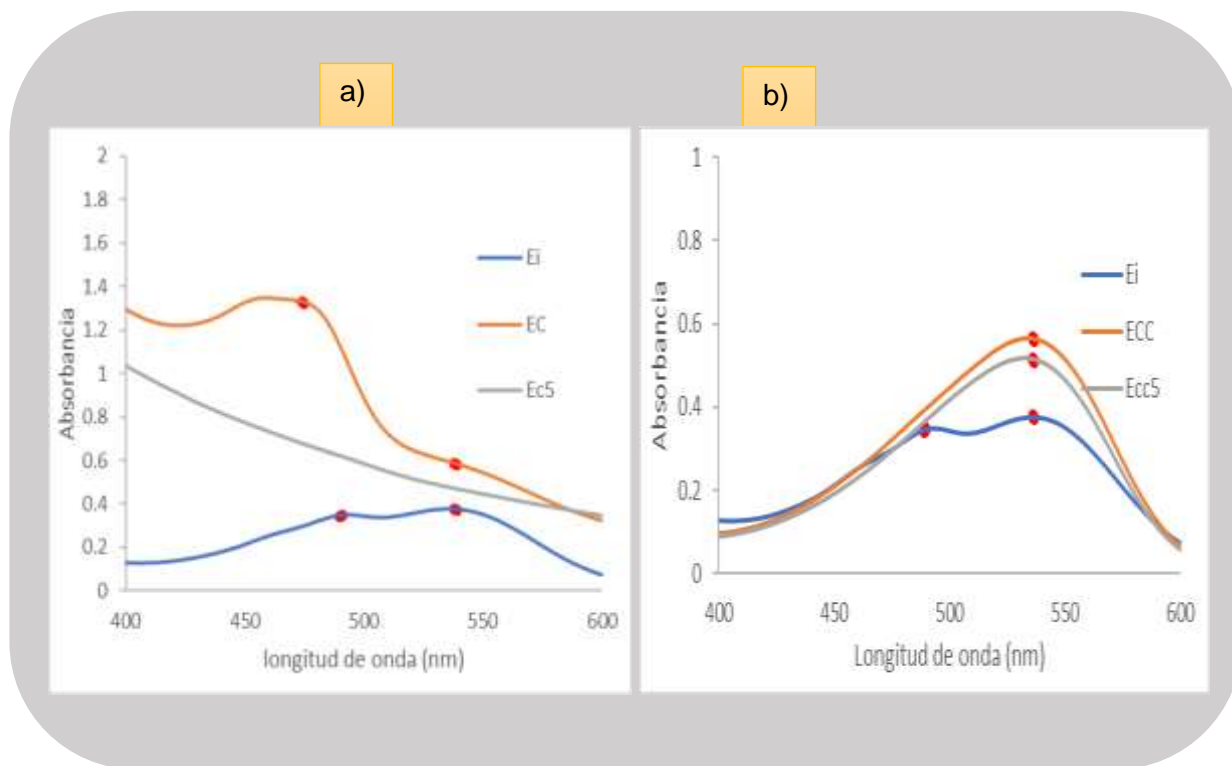


Figura 3.5 Espectro UV-vis de extractos concentrados (Ec) sin copigmentar (a) y copigmentado (Ecc) (b), incluyendo extractos iniciales (Ei) (control) y después de 5 días de almacenamiento (Ec5 y Ecc5).

En su caso, el concentrado cuyo extracto fue copigmentado conserva la banda de betacianinas y pierde la banda de betaxantinas, con permanencia de coloración similar a la inicial, demostrando que la copigmentación mediante la adición de un ácido orgánico, en este caso el ácido ascórbico, conserva las betacianinas. A su vez, el espectro de este extracto después de 5 días de ser concentrado presenta el mismo comportamiento. Los resultados de estabilidad obtenidos en este trabajo fueron similares a lo reportado por Leong et al. (2018), en este caso los autores estabilizaron betacianinas de cascara de pitaya.

En la tabla 3.2 se muestra el contenido de betalaínas que se obtuvo de los extractos iniciales (Ei), y los extractos copigmentados concentrados (Ecc).

Tabla 3.2 Contenido inicial de betalaínas en extractos (mg/L)

Método de extracción	Contenido de betalaínas en extractos (mg/L)	
	Ei	Ecc
P	914.5	2867
E	1123.3	2337
M	384.8	1618

En todos los casos se observa el incremento de betalaínas por efecto de la concentración, y la diferencia en el contenido de betalaínas se debe al método de extracción.

3.3.2 Adición de portadores como polímeros a extractos copigmentados y concentrados

En las tablas 3-3:3-6 se muestran los resultados de contenido de betalaínas de los extractos copigmentados, concentrados con un portador, una vez que fueron almacenados 4°C y 25°C. Los resultados corresponden a 0, 7, 14 días de almacenamiento. En las figuras 3.6-3.8 se presentan estos resultados gráficamente.

Tabla 3.3 Contenido de betalaínas en mg/L del extracto copigmentado concentrado con maltodextrina (ccM), un extracto copigmentado y concentrado (control), un extracto inicial sin ácido y sin concentrar (Bco1), un extracto con portador sin concentrar (Bco2) conservados a 4 y 25°C por 6 meses de almacenamiento

Método de extracción / Polímero	T °C	Bco 1	Bco 2	Contenido de betalaínas en extractos (mg/L)																
				Copigmentado y concentrado (control)								Copigmentado, concentrado y maltodextrina (ccM)								
				0d	7d	14d	1m	2m	3m	4m	5m	6m	7d	14d	1m	2m	3m	4m	5m	6m
P	4	915	1150	2867	2858	2834	2749	2742	2637	2746	2635	2485	2823	2698	2767	2755	2745	2775	2413	2390
	25	915	1150	2867	2590	2306	2270	1989	1919	1369	1222	719	2655	2471	2292	1770	1576	1566	997	694
E	4	1123	1551	2337	2617	2472	2541	2743	2393	2120	2032	1969	2609	2562	2663	2351	2498	2437	2302	2256
	25	1123	1551	2337	2411	2407	2204	1564	1491	1410	1168	717	2504	2289	2095	1510	1539	1093	1162	793
M	4	385	989	1618	1782	1784	1758	1646	1573	1565	1477	1179	1812	1772	1760	1707	1634	1686	1563	1381
	25	385	989	1618	1484	1473	1362	1046	922	713	731	778	1674	1519	1462	1101	832	1124	627	664

Tabla 3.4 Contenido de betalaínas en mg/L del extracto copigmentado concentrado con goma arábica (ccG), un extracto copigmentado y concentrado (control), un extracto inicial sin ácido y sin concentrar (Bco1), un extracto con portador sin concentrar (Bco2) conservados a 4 y 25°C por 6 meses de almacenamiento

Método de extracción/ Polímero	T °C	Bco 1	Bco 2	Contenido de betalaínas en extractos (mg/L)																
				Copigmentado y concentrado (control)								Copigmentado, concentrado y adicionado con goma arábica (ccG)								
				0d	7d	14d	1m	2m	3m	4m	5m	6m	7d	14d	1m	2m	3m	4m	5m	6m
P	4	915	1150	2867	2858	2834	2749	2742	2637	2746	2635	2485	2735	2586	2715	2702	2614	2675	2590	2561
	25	915	1150	2867	2590	2306	2270	1989	1919	1369	1222	719	2520	2445	2229	1818	1460	1297	1216	684
E	4	1123	1551	2337	2617	2472	2541	2743	2393	2120	2032	1969	2726	2546	2468	2424	2309	2256	2225	2224
	25	1123	1551	2337	2411	2407	2204	1564	1491	1410	1168	717	2445	2258	2029	1627	1342	1228	988	584
M	4	385	989	1618	1782	1784	1758	1646	1573	1565	1477	1179	1845	1770	1717	1689	1612	1596	1501	1504
	25	385	989	1618	1484	1473	1362	1046	922	713	731	778	1655	1515	1398	995	977	829	912	695

Tabla 3.5 Contenido de betalaínas en mg/L del extracto copigmentado concentrado con pectina (ccP), un extracto copigmentado y concentrado (control), un extracto inicial sin ácido y sin concentrar (Bco1), un extracto con portador sin concentrar (Bco2) conservados 4 y 25°C por 6 meses de almacenamiento.

Método de extracción / Polímero	T °C	Bco 1	Bco 2	Contenido de betalaínas en extractos (mg/L)																
				Copigmentado y concentrado (control)								Copigmentado, concentrado y adicionado con pectina (ccP)								
				0d	7d	14d	1m	2m	3m	4m	5m	6m	7d	14d	1m	2m	3m	4m	5m	6m
P	4	915	1150	2867	2858	2834	2749	2742	2637	2746	2635	2485	2781	2582	2573	2482	2438	2385	2379	2074
	25	915	1150	2867	2590	2306	2270	1989	1919	1369	1222	719	2338	2229	2473	1762	1331	1121	1037	761
E	4	1123	1551	2337	2617	2472	2541	2743	2393	2120	2032	1969	2579	2295	2502	2497	2480	2398	2387	2356
	25	1123	1551	2337	2411	2407	2204	1564	1491	1410	1168	717	2259	2180	2203	1637	1286	1126	944	719
M	4	385	989	1618	1782	1784	1758	1646	1573	1565	1477	1179	1776	1734	1774	1626	1599	1596	1535	1508
	25	385	989	1618	1484	1473	1362	1046	922	713	731	778	1541	1469	1402	1229	843	774	700	695

Tabla 3.6 Contenido de betalaínas en mg/L del extracto copigmentado concentrado con xiloglucano (ccX), un extracto copigmentado y concentrado (control), un extracto inicial sin ácido y sin concentrar (Bco1), un extracto con portador sin concentrar (Bco2) conservados a 4 y 25°C por 6 meses de almacenamiento.

Método de extracción / Polímero	T °C	Bco 1	Bco 2	Contenido de betalaínas en extractos (mg/L)																
				Copigmentado y concentrado (control)								(Copigmentado, concentrado y adicionado con xiloglucano (ccX))								
				0d	7d	14d	1m	2m	3m	4m	5m	6m	7d	14d	1m	2m	3m	4m	5m	6m
P	4	915	1150	2867	2858	2834	2749	2742	2637	2746	2635	2485	2688	2402	2407	2384	2398	2356	2328	2311
	25	915	1150	2867	2590	2306	2270	1989	1919	1369	1222	719	2154	2275	2348	1781	1878	1283	893	763
E	4	1123	1551	2337	2617	2472	2541	2743	2393	2120	2032	1969	2726	2235	2426	2530	2346	2240	2217	2227
	25	1123	1551	2337	2411	2407	2204	1564	1491	1410	1168	717	2343	2100	1946	1458	1328	1131	1079	646
M	4	385	989	1618	1782	1784	1758	1646	1573	1565	1477	1179	1776	1829	1905	1749	1647	1579	1546	1503
	25	385	989	1618	1484	1473	1362	1046	922	713	731	778	1678	1504	1435	1045	910	796	649	676

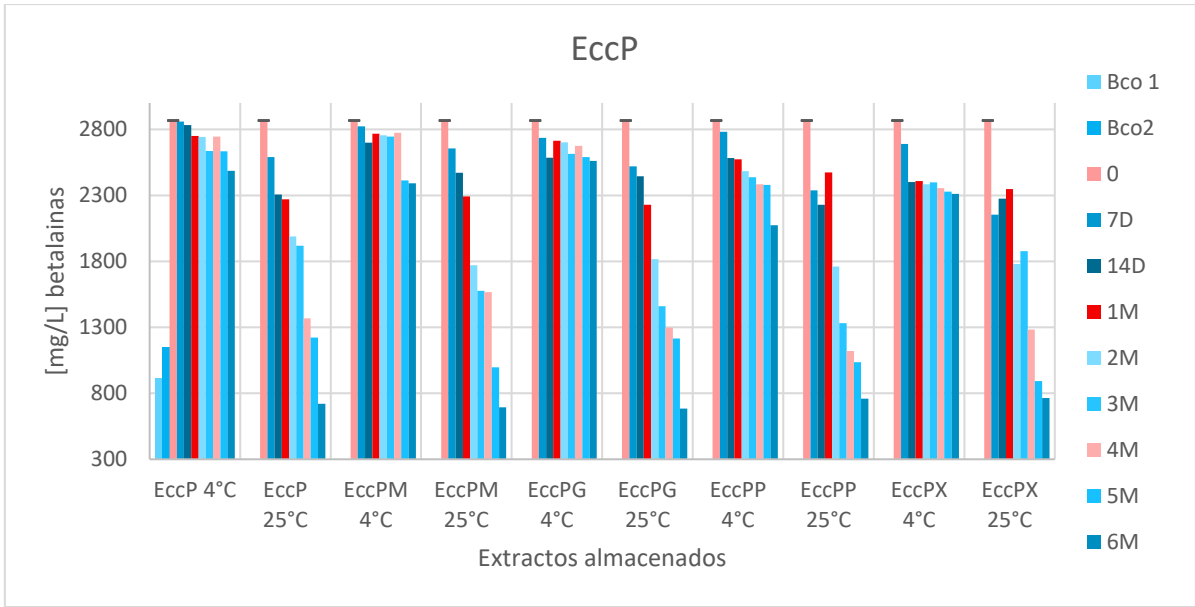


Figura 3.6 Contenido de betalaínas en los extractos provenientes del método prensa, una vez que fueron copigmentados concentrados con portador y almacenados a 4 y 25°C.

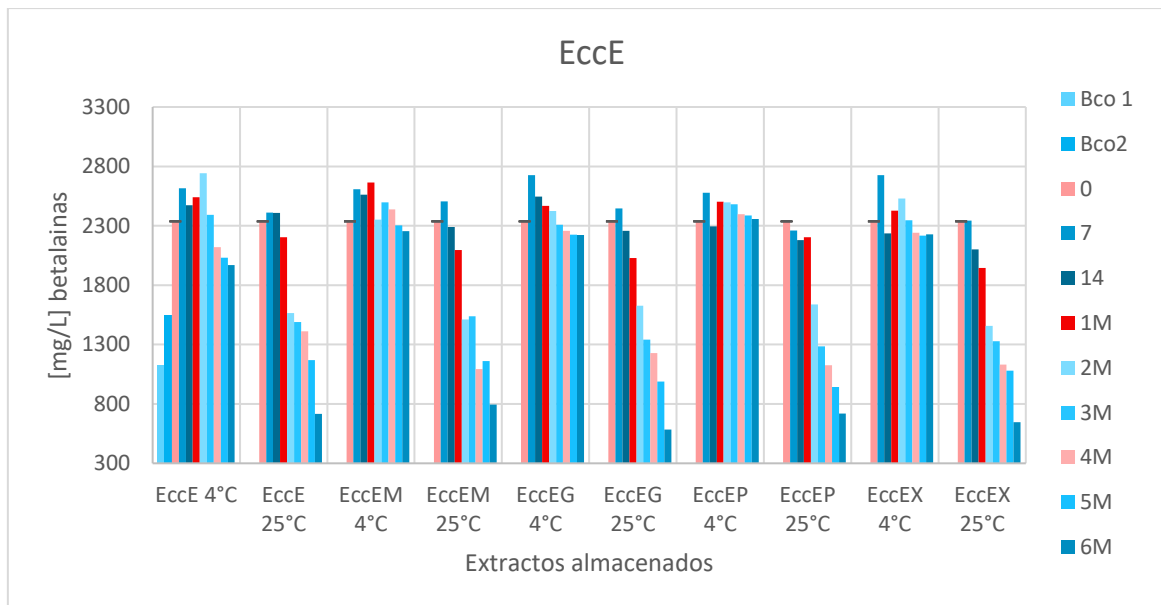


Figura 3.7 Contenido de betalaínas en los extractos provenientes del método extractor, una vez que fueron copigmentados concentrados con portador y almacenados a 4 y 25°C.

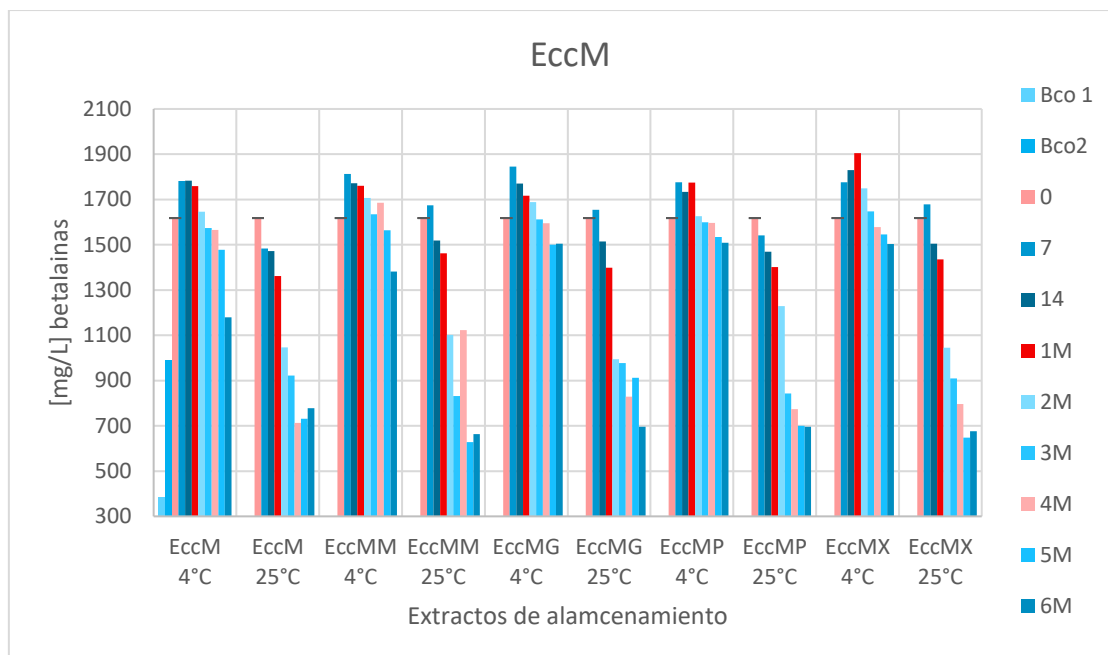


Figura 3.8 Contenido de betalaínas en los extractos provenientes del método prensa, una vez que fueron copigmentados concentrados con portador y almacenados a 4 y 25°C.

En todos los casos los extractos almacenados a 4°C contienen mayor cantidad de betalaínas que las conservadas a temperatura de 25°C, observando con esto que a temperatura ambiente si existe una degradación gradual de las betalaínas.

Por otro lado, se observa un aumento de betalaínas hasta los 7 días de almacenamiento, indicando que en ese tiempo se estabilizan las betalaínas; sin embargo, con el transcurso del tiempo este aumento de concentración vuelve a decaer, independientemente de la adición del portador.

En las figuras 3.6-3.8, así como en las tablas 3.3-3.6 se observa que la adición de polímeros en el extracto por prensa no ayuda a la estabilidad del extracto con el paso de los días ya que desde los primeros días hasta los 6 meses de almacenamiento existe una degradación aparente de betalaínas para 4 y 25°C, aunque para los extractos por molienda y extractor la adición del polímero si ayuda a la estabilidad de betalaínas en almacenamiento a 4°.

Los extractos que se mantienen a los 6 meses de almacenamiento a 4° son EccP, EccPM, EccPG, EccPX en un rango de 2300-2500 mg/L, EccE, EccEM, EccEG, EccEP, EccEX en un rango de 1800-2300 mg/L, EccM, EccMM, EccMG, EccMP, EccMX en un rango de 1100-1500 mg/L.

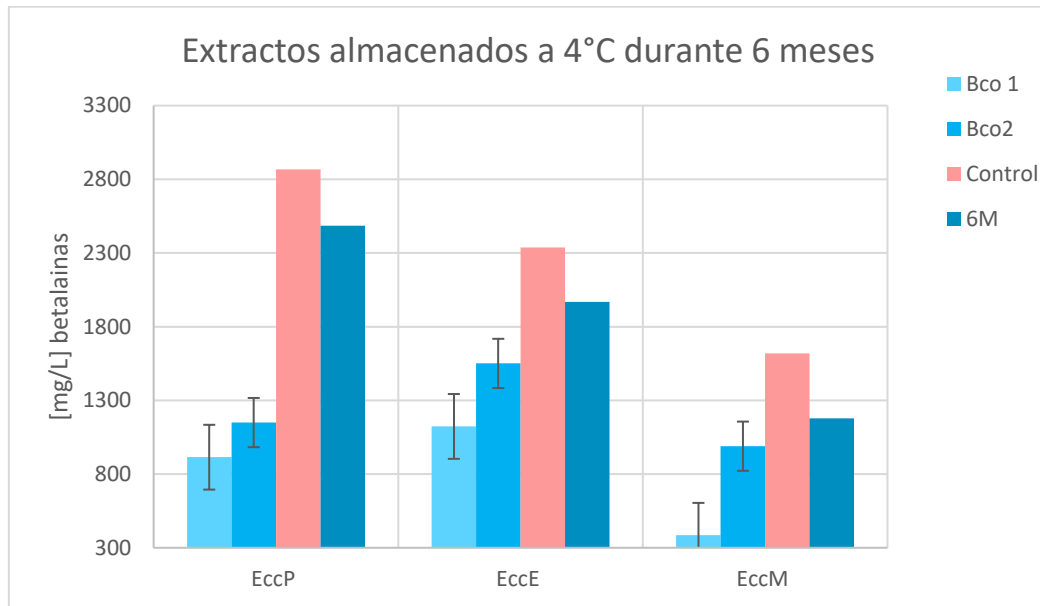


Figura 3.9 Contenido de betalaínas (mg/L) de los extractos por prensa (EccP), por extractor (EccE) y por molienda (EccM) almacenados por 6 meses a 4°C, de un extracto un extracto copigmentado y concentrado (control), un extracto inicial sin ácido y sin concentrar (Bco1), un extracto con portador sin concentrar (Bco2).

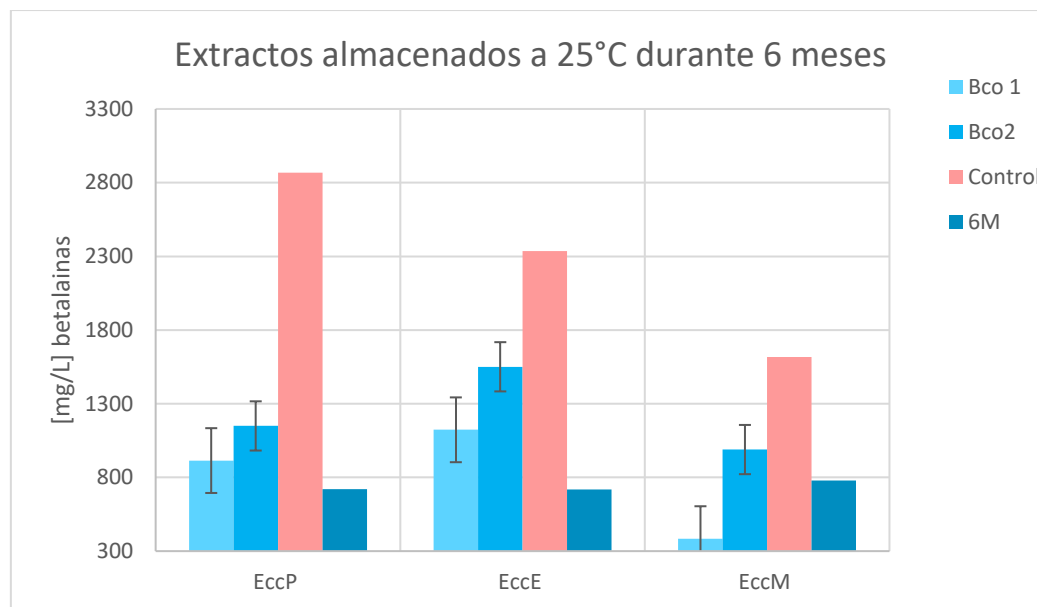


Figura 3.10 Contenido de betalaínas (mg/L) de los extractos por prensa (EccP), por extractor (EccE) y por molienda (EccM) almacenados por 6 meses a 25°C, de un extracto un extracto copigmentado y concentrado (control), un extracto inicial sin ácido y sin concentrar (Bco1), un extracto con portador sin concentrar (Bco2).

En las figuras 3.9-3.10 se muestran los resultados obtenidos a los 6 meses de almacenamiento para 4 y 25°C, en las cuales se alcanza a percibir que para todos los casos el control tiene una concentración de betalaínas mayor al Bco1 y Bco2, esta concentración esta dada para el tiempo 0 de almacenamiento mientras que a los 6 meses de almacenamiento esta concentración va disminuyendo, y para los almacenados a 4°C el que se mantiene mas estable aun con el paso del tiempo es el extracto concentrado copigmentado por prensa, mientras que para los almacenados a 25°C la degradación de las betalaínas surge con mayor rapidez en todos los extractos por igual, comprobando con esto la afectación que tiene la temperatura sobre las betalaínas.

3.3.3 Determinación de cinéticas de degradación de betalaínas de betabel

El comportamiento de las cinéticas se muestra a continuación en las siguientes figuras.

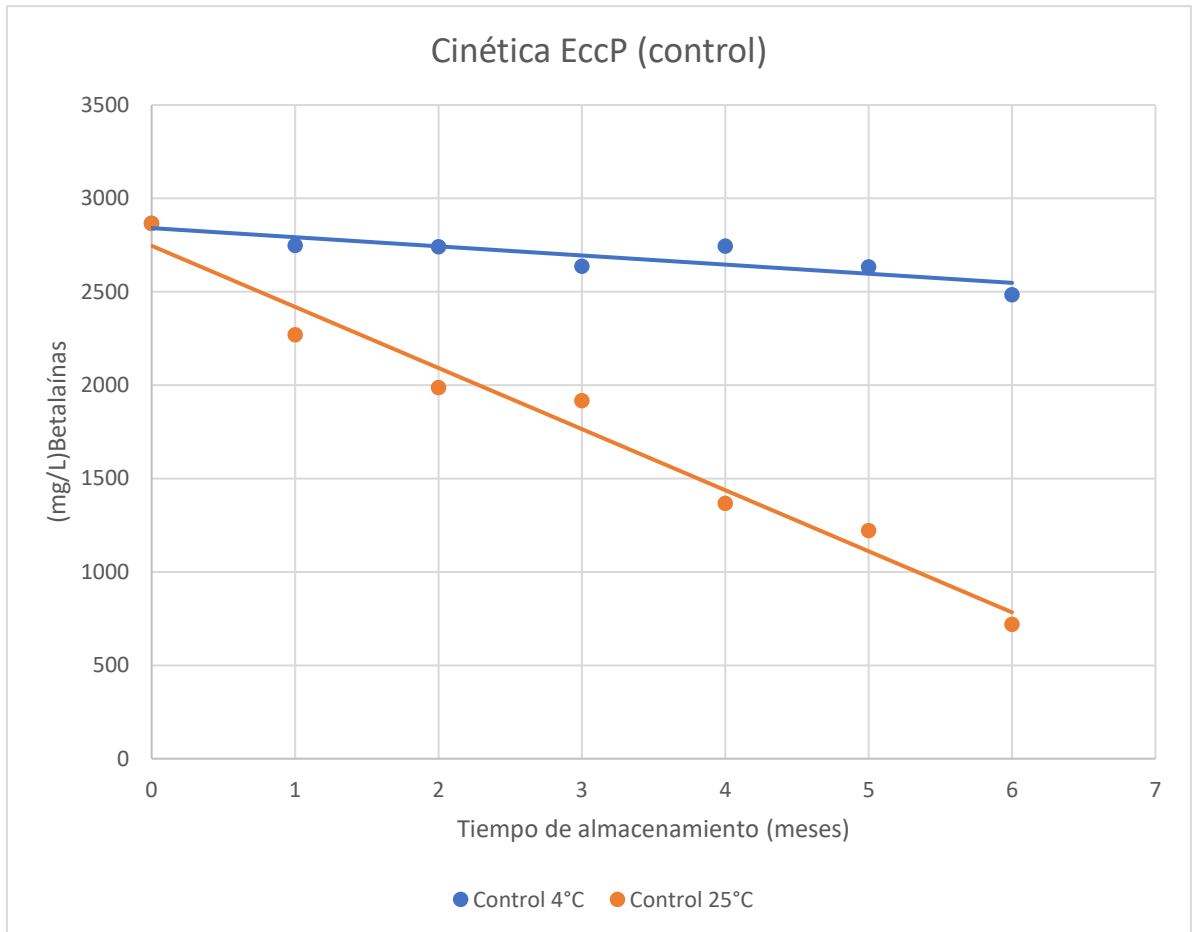


Figura 3.11 Cinética de un extracto (EccP) desde el tiempo 0 hasta los 6 meses de almacenamiento a 4 y 25°C

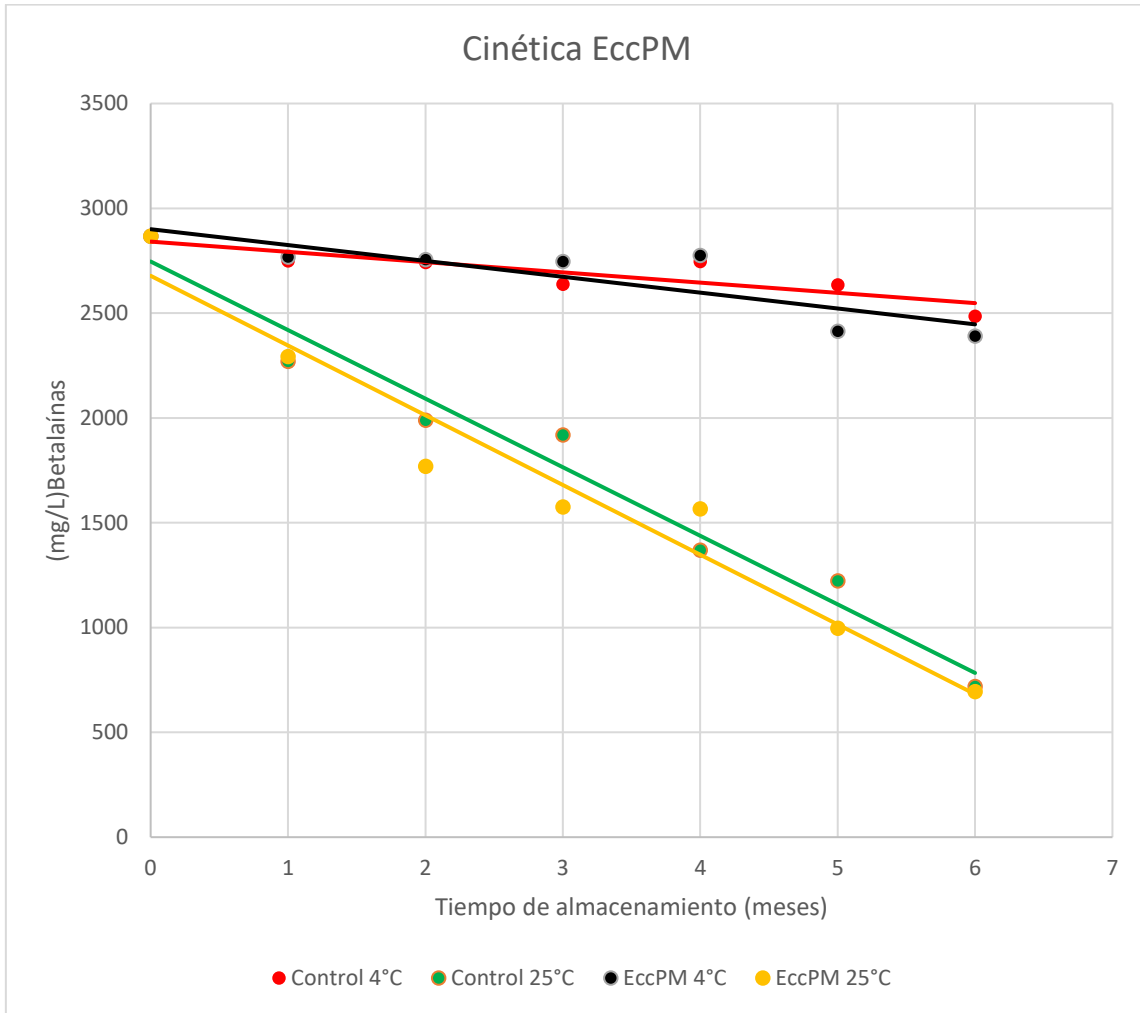


Figura 3.12 Cinética del extracto (EccPM) y el control desde el tiempo 0 hasta los 6 meses de almacenamiento a 4 y 25°C

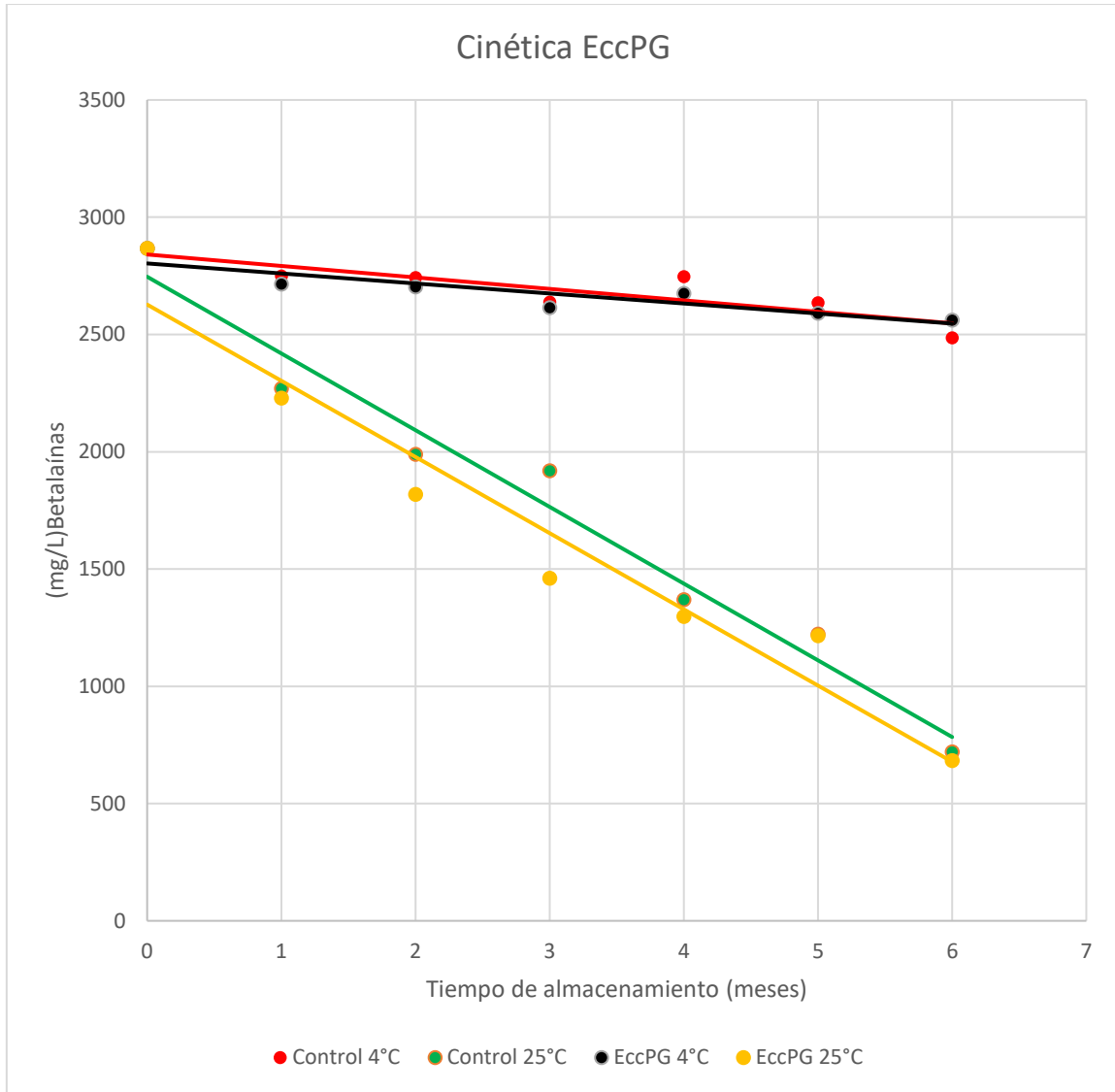


Figura 3.13 Cinética del extracto (EccPG) y el control desde el tiempo 0 hasta los 6 meses de almacenamiento a 4 y 25°C

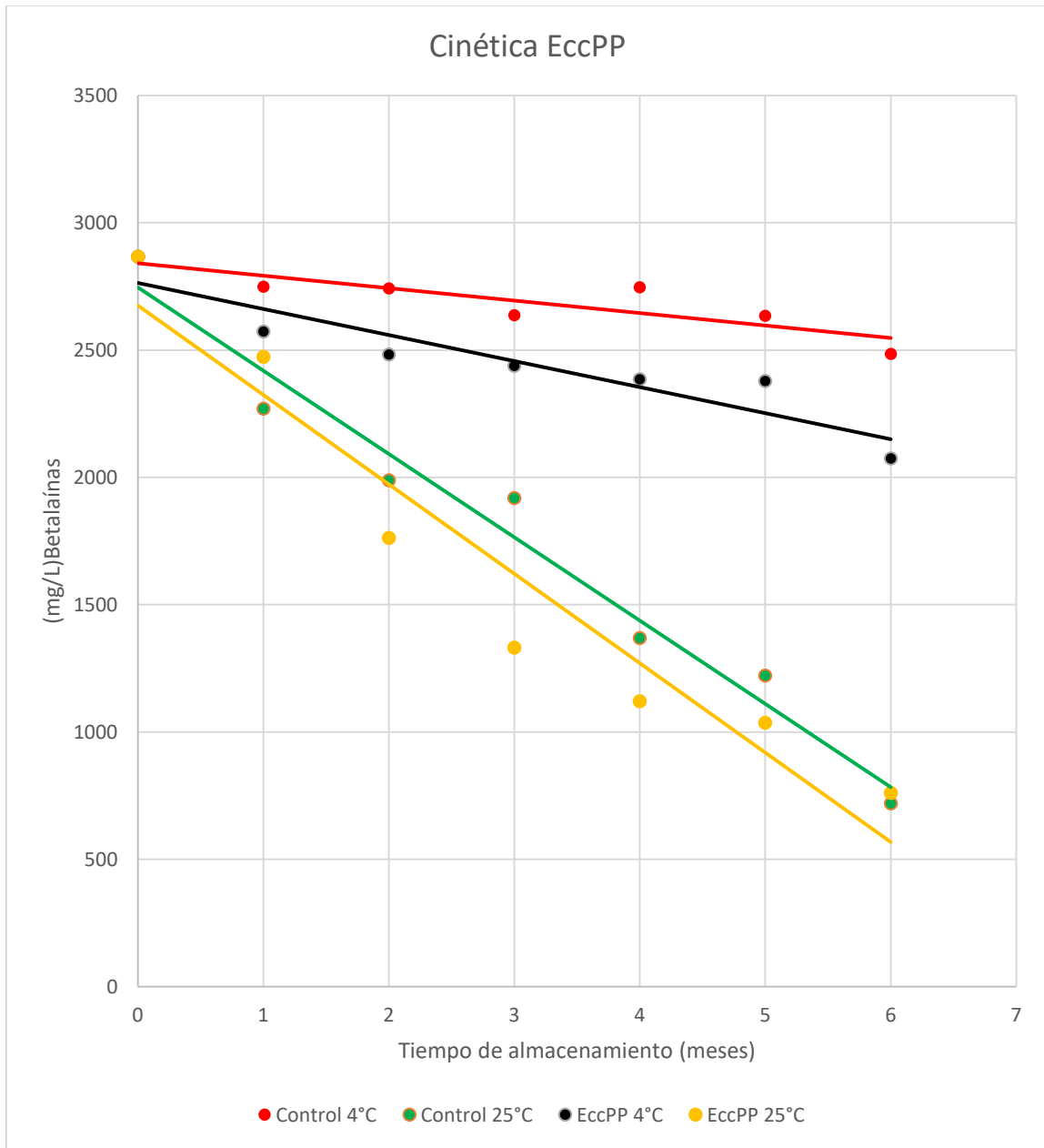


Figura 3.14 Cinética del extracto (EccPP) y el control desde el tiempo 0 hasta los 6 meses de almacenamiento a 4 y 25°C

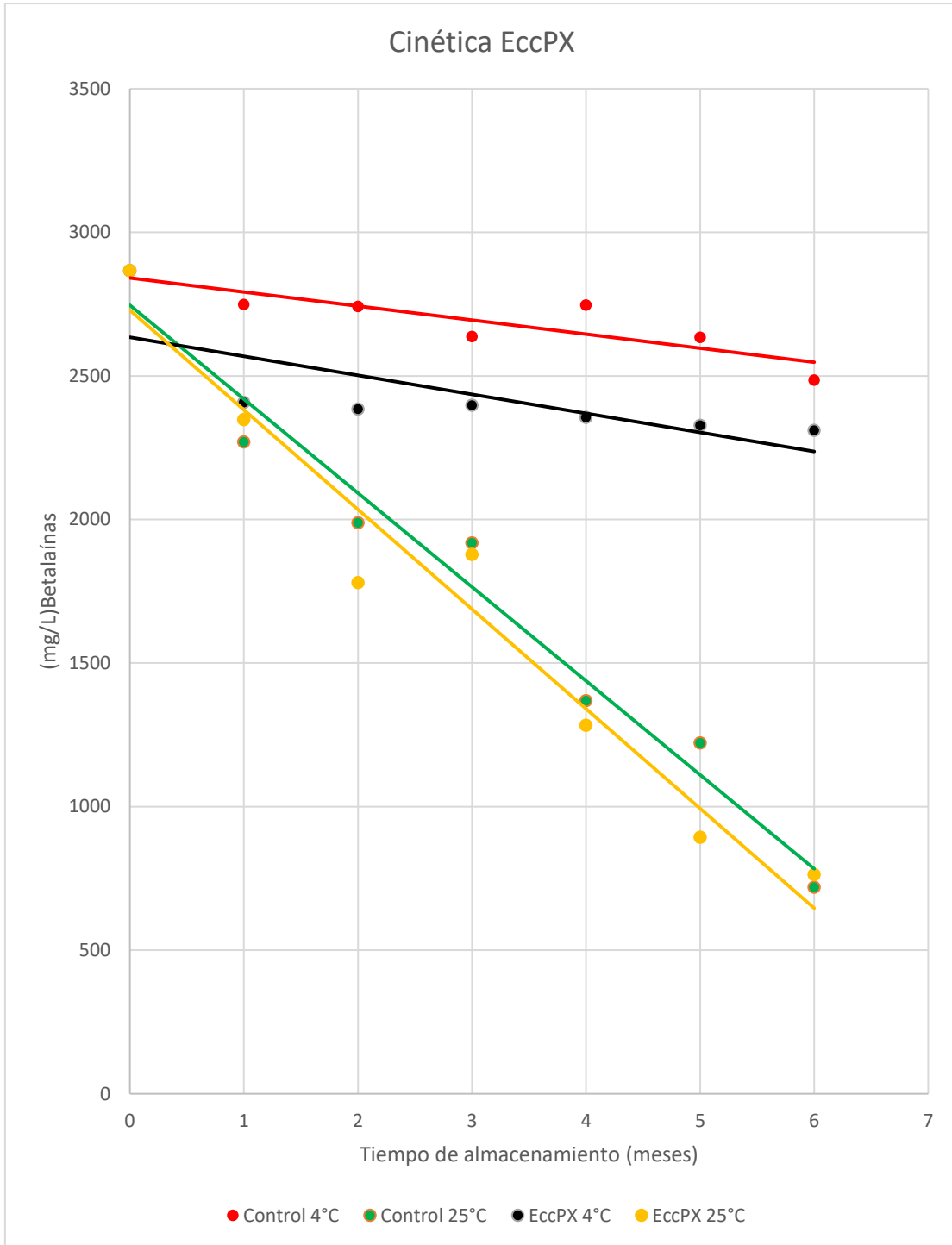


Figura 3.15 Cinética del extracto (EccPX) y el control desde el tiempo 0 hasta los 6 meses de almacenamiento a 4 y 25°C

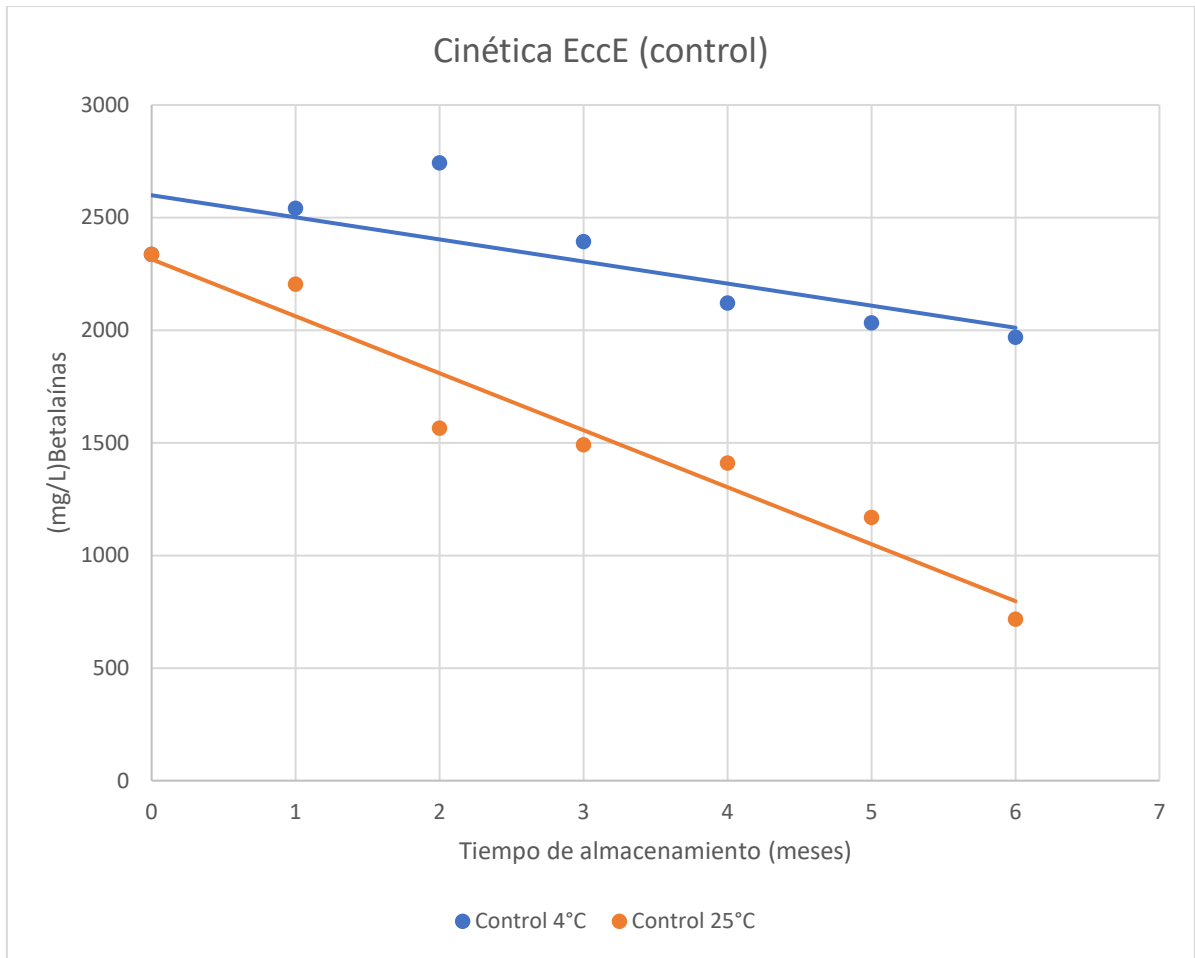


Figura 3.16 Cinética del extracto (EccE) desde el tiempo 0 hasta los 6 meses de almacenamiento a 4 y 25°C

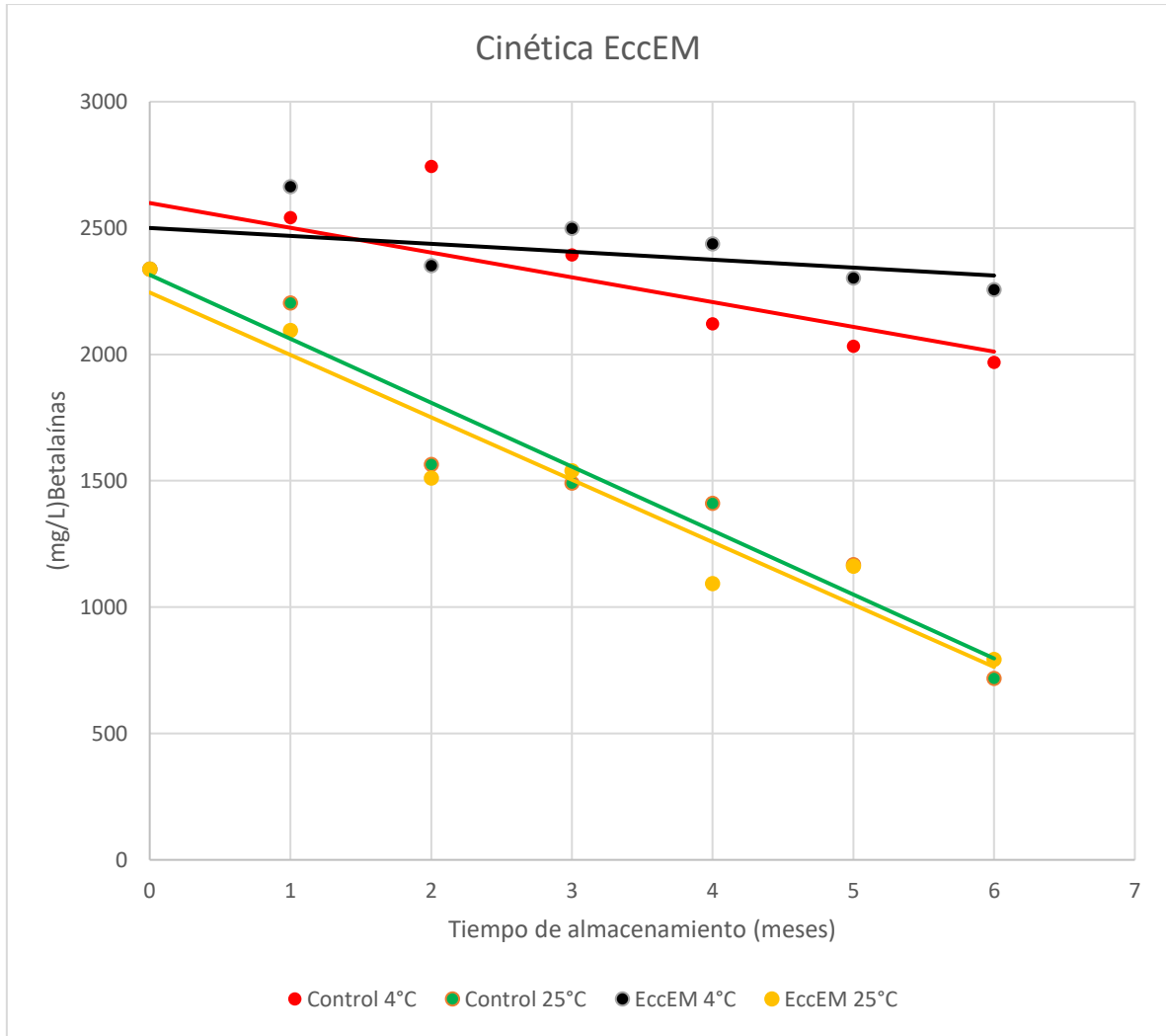


Figura 3.17 Cinética del extracto (EccEM) y el control desde el tiempo 0 hasta los 6 meses de almacenamiento a 4 y 25°C

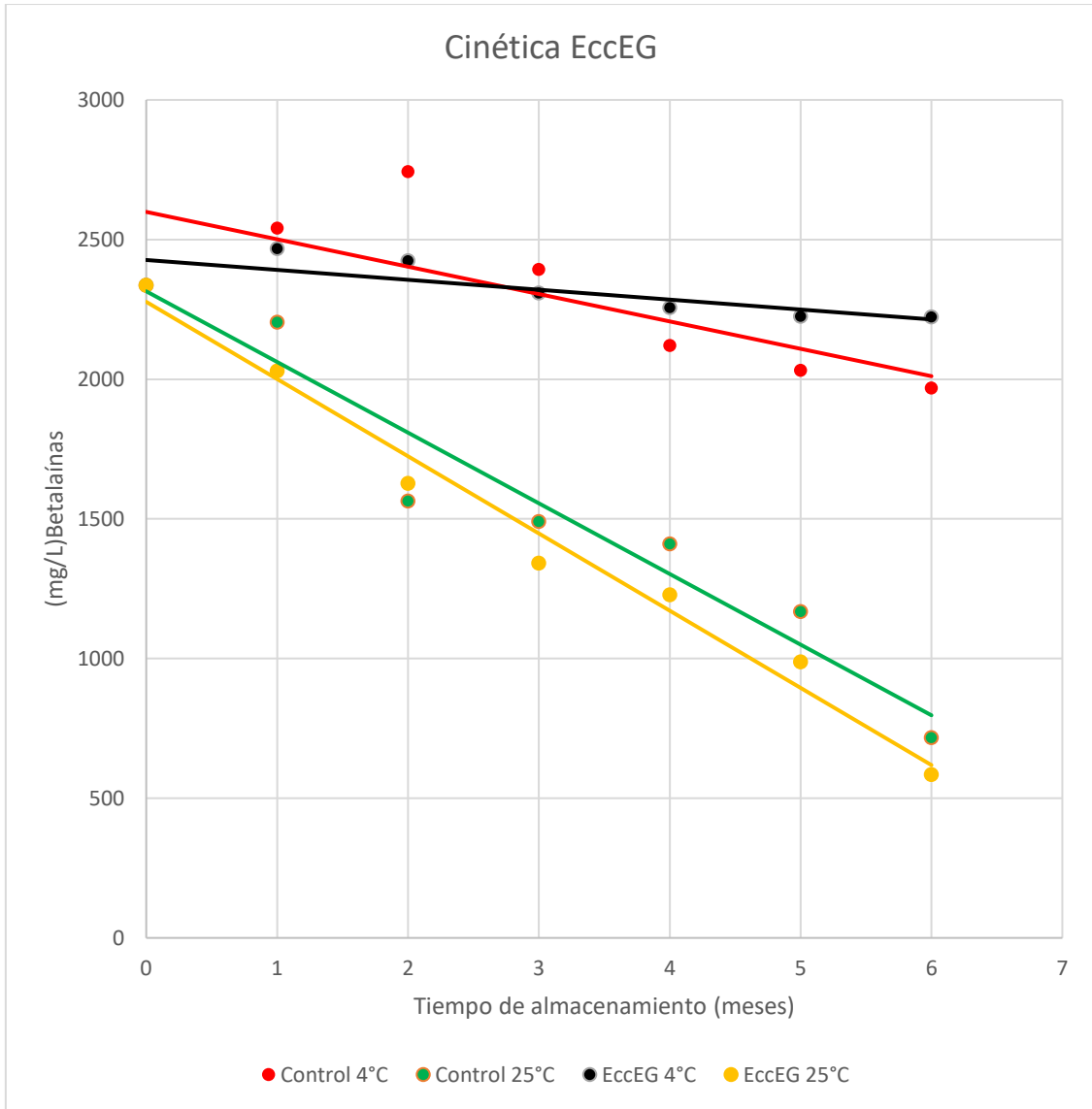


Figura 3.18 Cinética del extracto (EccEG) y el control desde el tiempo 0 hasta los 6 meses de almacenamiento a 4 y 25°C

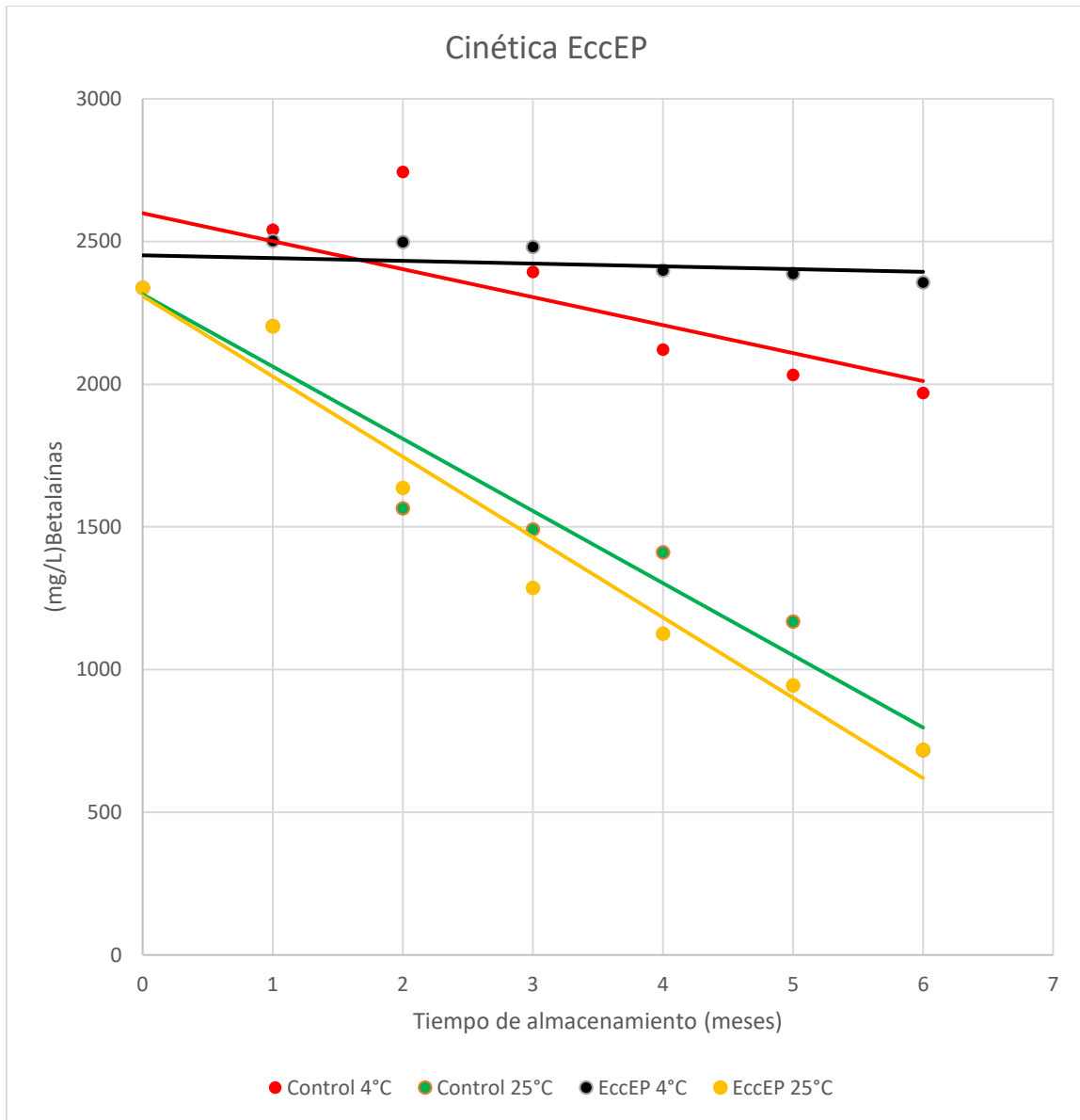


Figura 3.19 Cinética del extracto (EccEP) y el control desde el tiempo 0 hasta los 6 meses de almacenamiento a 4 y 25°C

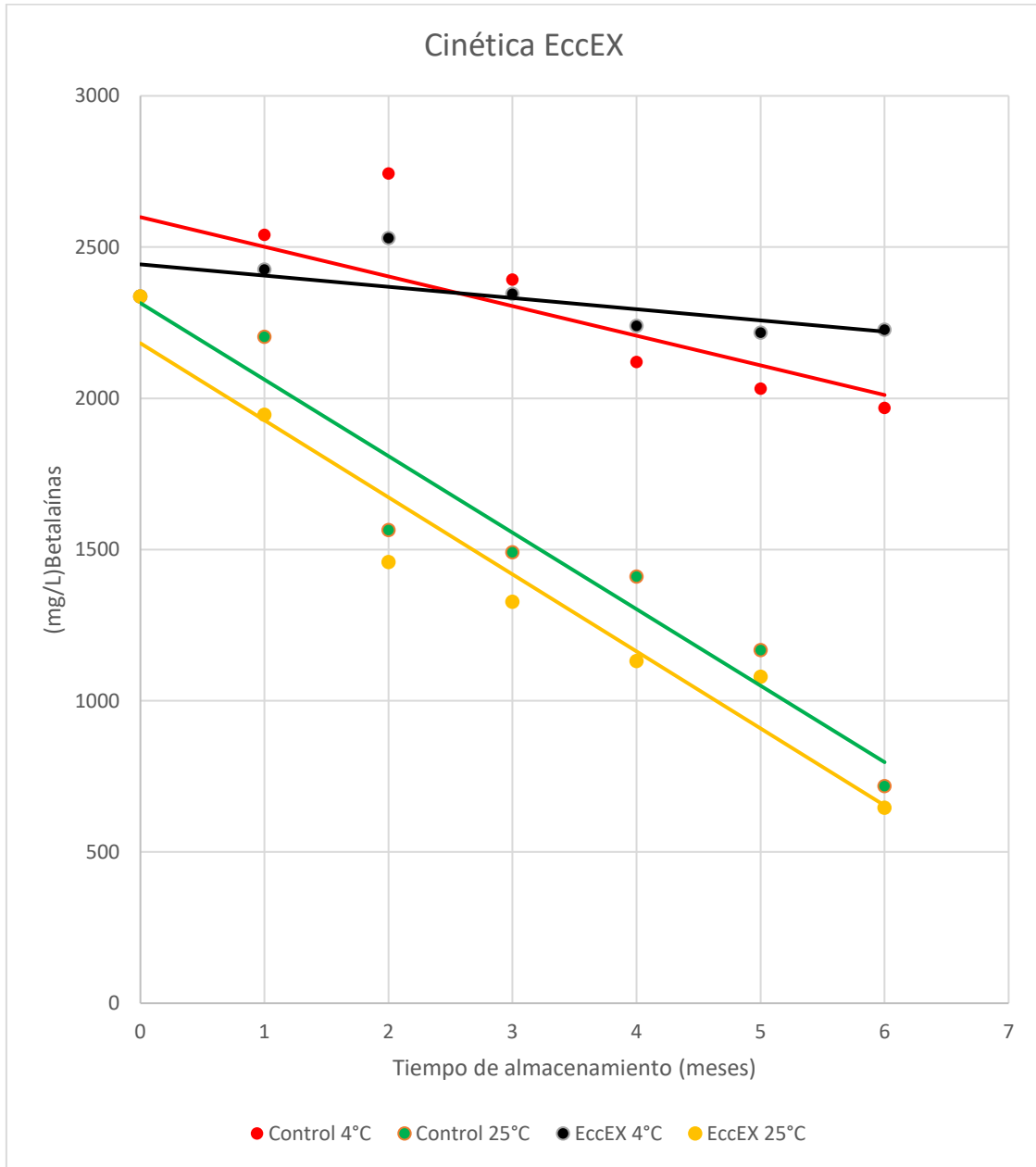


Figura 3.20 Cinética del extracto (EccEX) y el control desde el tiempo 0 hasta los 6 meses de almacenamiento a 4 y 25°C

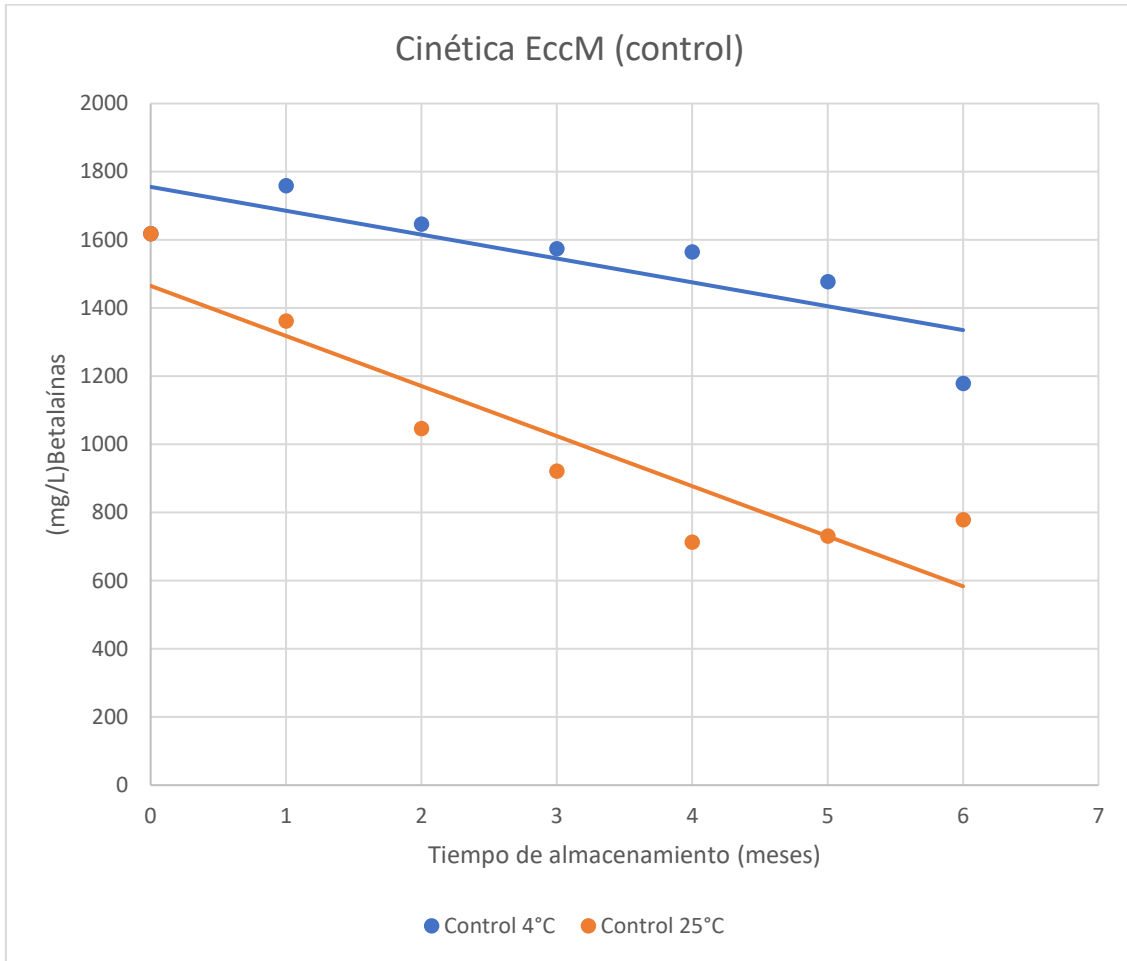


Figura 3.21 Cinética del extracto (EccM) desde el tiempo 0 hasta los 6 meses de almacenamiento a 4 y 25°C

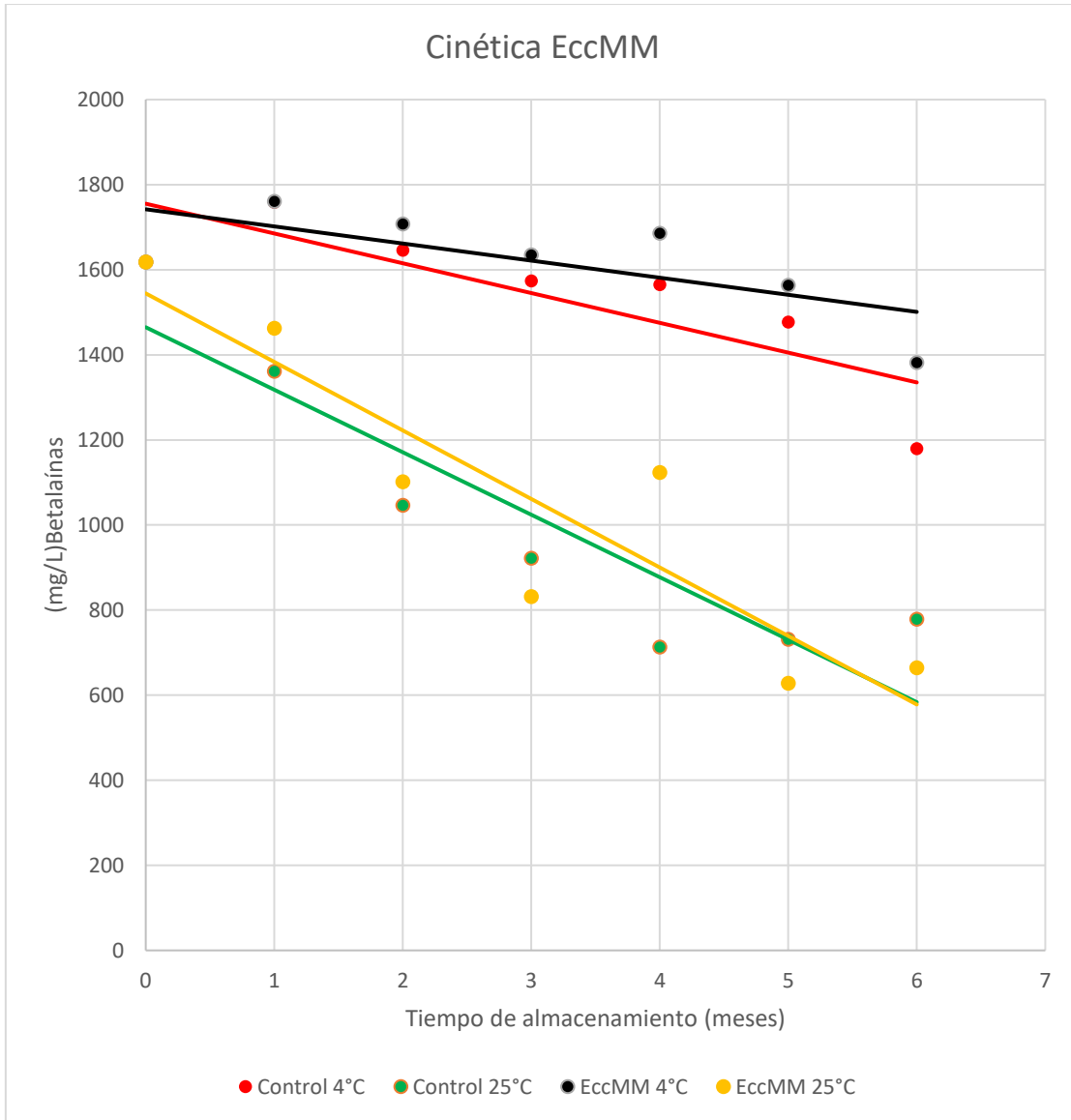


Figura 3.22 Cinética del extracto (EccMM) y el control desde el tiempo 0 hasta los 6 meses de almacenamiento a 4 y 25°C

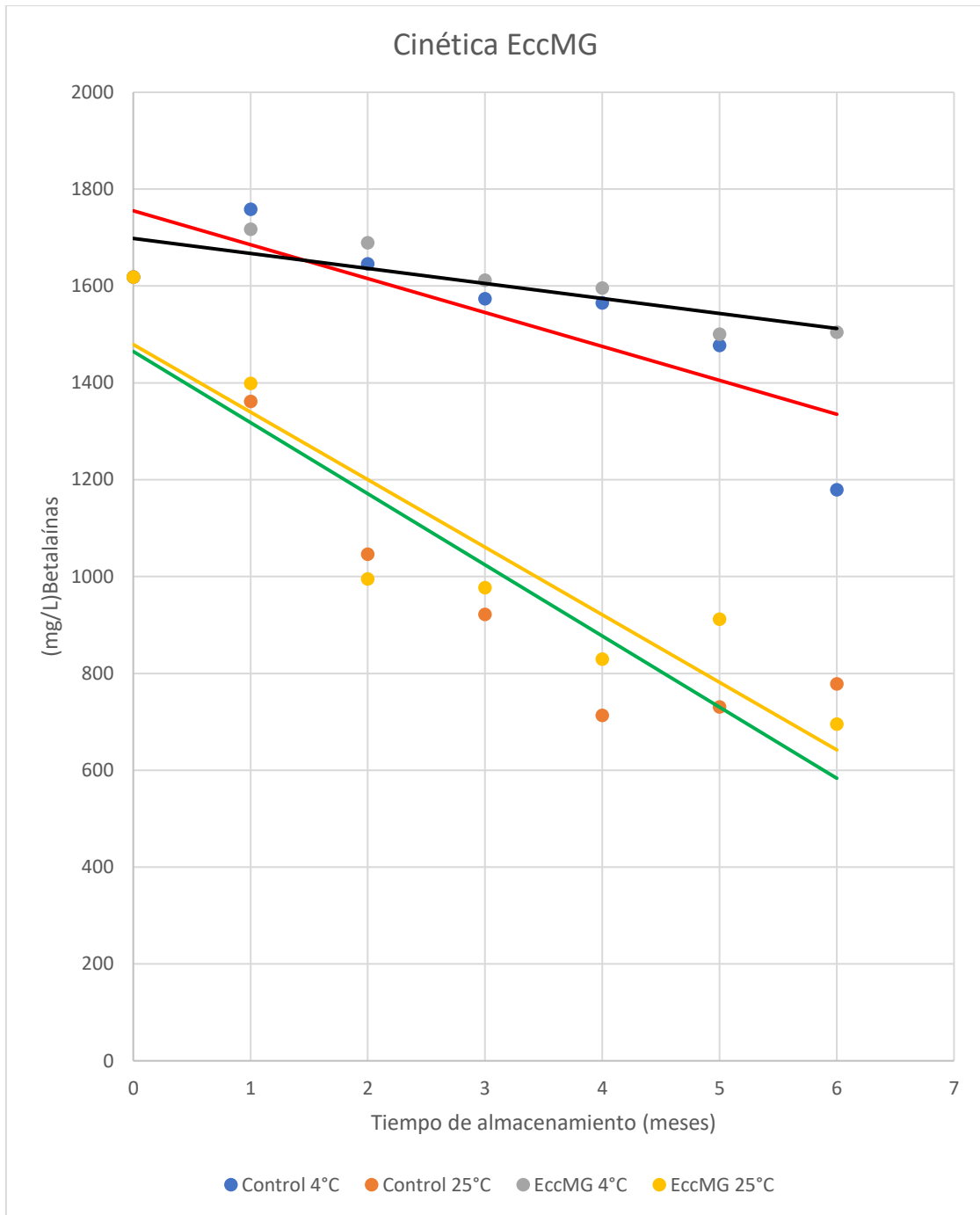


Figura 3.23 Cinética del extracto (EccMG) y el control desde el tiempo 0 hasta los 6 meses de almacenamiento a 4 y 25°C

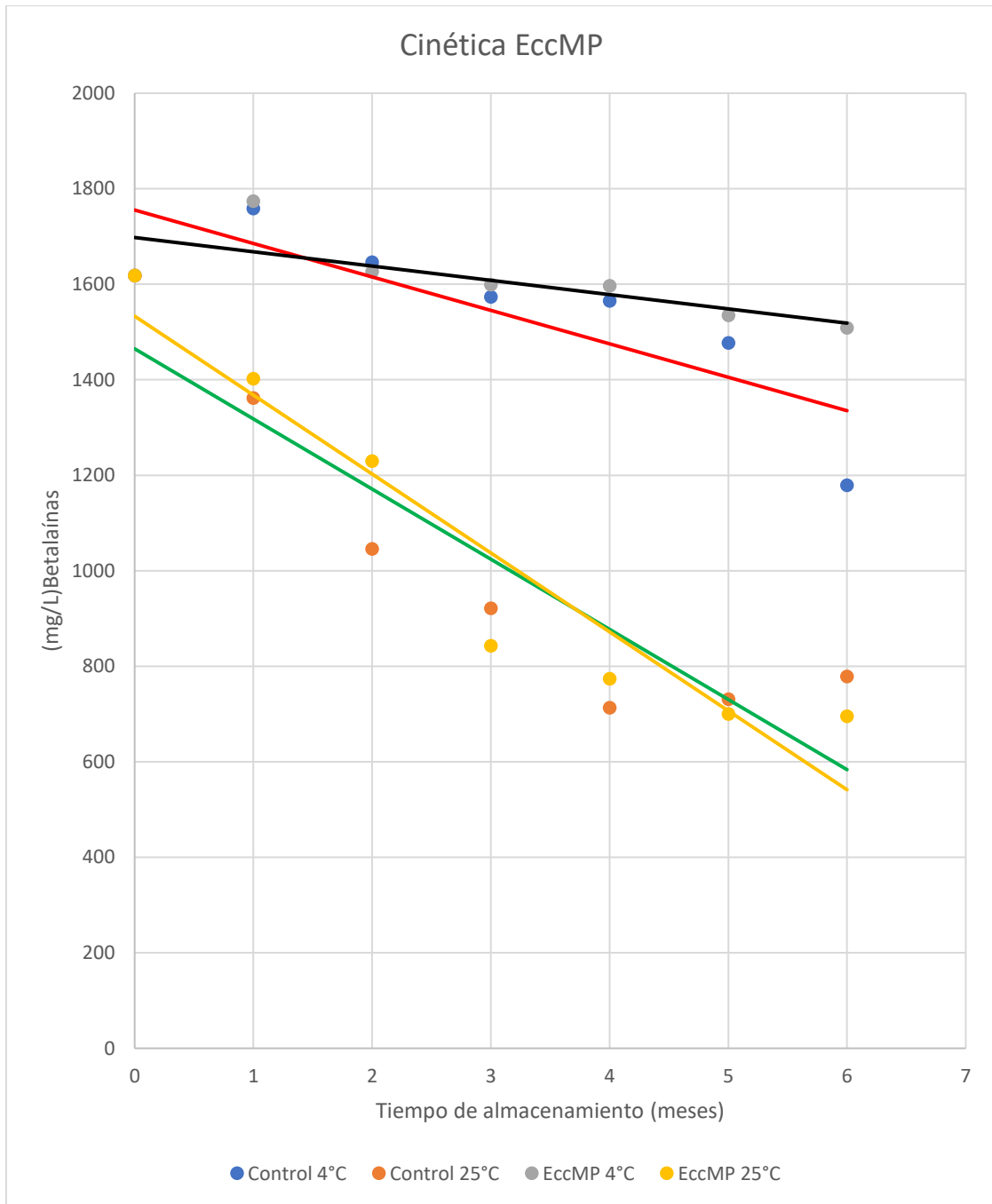


Figura 3.24 Cinética del extracto (EccMP) y el control desde el tiempo 0 hasta los 6 meses de almacenamiento a 4 y 25°C

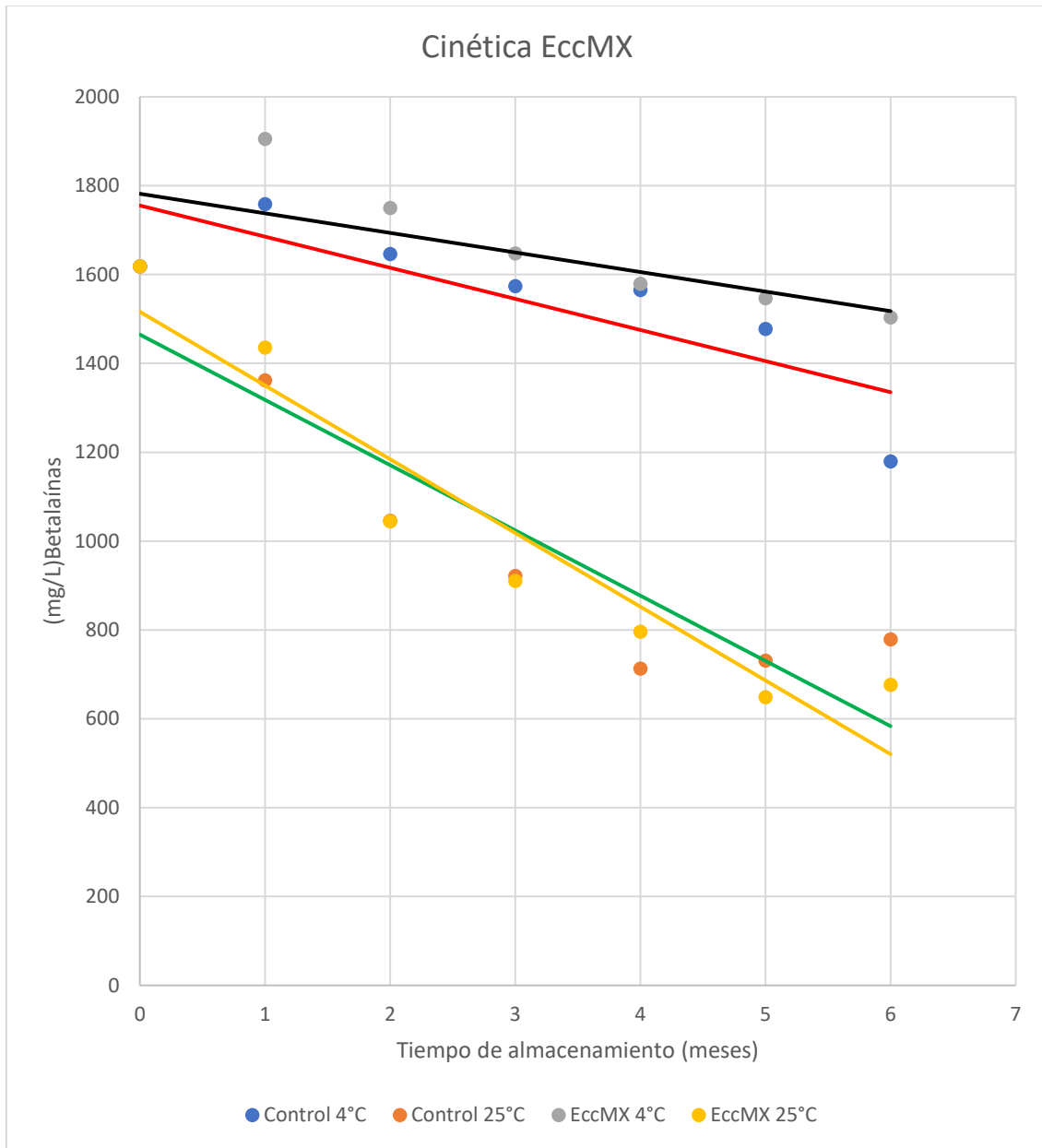


Figura 3.25 Cinética del extracto (EccMX) y el control desde el tiempo 0 hasta los 6 meses de almacenamiento a 4 y 25°C

En las figuras 3.11-3.25 se muestran las cinéticas obtenidas de los extractos concentrados copigmentados como control y adicionados con un portador, donde se logra observar la degradación de betalaínas con el paso del tiempo hasta los 6 meses de almacenamiento, en las cuales se aprecia que la degradación es mayor en los extractos a 25° mientras se mantienen más estables a 4°C, y que el extracto se mantiene en algunos más estable sin el portador.

3.3.4 Determinación de las características del extracto estable de betalaínas

Después del análisis realizado se considera que no es necesario la adición de un portador, siendo así que el extracto que tiene mejor estabilidad a los 6 meses de almacenamiento a 4° C es el extracto prensado copigmentado y concentrado el cual tiene las propiedades que se mencionan en la tabla 3.7, se encuentra en estado líquido y es estable en medios ácidos con pH menor a 6, manejable en un rango de temperatura menor a 100°C manteniendo sus características, con un alto valor de nitrógeno tres veces mayor que el reportado para el betabel, por consiguiente la concentración de proteína obtenida es mayor que la reportada para el betabel, se obtuvo 24.3% de contenido de STD, por debajo de lo reportado para el polvo de betabel comercial, en cuanto a los azúcares se encontró que tiene un 60% más que el betabel sin concentrar y un 20% debajo del polvo de betabel comercial, finalizando con el contenido de betalaínas en 3%, un mayor porcentaje comparado con lo reportado, para los polvos de betabel comerciales. En general, los resultados son superiores, debido a que se trata de un producto concentrado.

Tabla 3-7 Propiedades del extracto estable de betalaínas de betabel.

Extracto copigmentado y concentrado de betalaínas de betabel		Propiedades
Estado		Líquido
pH de estabilidad		< 6
Temperatura de estabilidad		< 100°C
Nitrógeno		8.49 mg/g
Proteína		53.07 mg/g
Sólidos Totales Disueltos		243.1 g/L
Azúcares		61° Brix
Betalaínas		<3%w

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los datos de estabilidad térmica encontrados en este proyecto son <100 °C, superiores a los encontrados por Attia et al., (2013) de 50°C e inferior por 10 unidades en cuanto a lo mencionado por Arthikha y Madhanasundareswari (2019), mientras que el pH de estabilidad se mantiene dentro del rango <7 mencionado por Attia et al., (2013), Antigo et al. (2017), Trishitman et al., (2021), Arthikha y Madhanasundareswari (2019). Estos resultados están referenciados a 7 días de almacenamiento y estabilizados mediante un polímero, los encontrados en este proyecto están referenciados a los 6 meses de almacenamiento estabilizados mediante copigmentación.

CONCLUSIONES

Se obtuvieron extractos acuosos de betalaínas utilizando licuadora (molienda), prensa y extractor. A través de la molienda se consiguió un mayor rendimiento por el volumen de extracto obtenido; sin embargo, se obtuvo el menor contenido de betalaínas, mientras que un menor rendimiento se obtuvo mediante prensa y extractor; sin embargo, mediante estos métodos se logró un mayor contenido de betalaínas superando al de molienda debido a la dilución que se presenta por la adición de agua para la extracción.

Como técnicas de estabilización, se utilizaron la copigmentación, adicionando ácido ascórbico y retirando agua del extracto para obtener extractos concentrados de betalaínas con 20 % de agua. Además, a estos extractos se adicionó un portador de tipo polisacárido, con el objeto de incrementar la estabilidad del extracto para prolongar su vida de anaquel.

Para probar la estabilidad de los extractos obtenidos en anaquel, los extractos fueron almacenados a dos temperaturas 4°C y 25°C dando seguimiento a la degradación de betalaínas durante 6 meses. De esta etapa se concluye que la temperatura afectó el contenido de betalaínas, de forma independiente a todos los extractos. Los productos almacenados presentaron una pérdida de 0-20 % durante 6 meses, mientras que los que fueron almacenados a 25°C fueron mayormente afectados, perdiendo hasta el 80% de betalaínas, a partir de 2 meses de almacenamiento.

Con respecto a los métodos utilizados para la estabilización de las betalaínas (copigmentación y adición de un polisacárido como portador de betalaínas), se encontró que los extractos obtenidos por prensa copigmentados y concentrados mantienen el contenido de betalaínas durante los 6 meses de seguimiento en anaquel; mientras que los extractos de molienda y extractor, copigmentados y concentrados se observó una pérdida del 20 % de degradación de betalaínas, sin observar cambios representativos en aquellos extractos a los que se adicionó un portador. De acuerdo con estos resultados, se concluye que no es necesaria la adición de un portador (EccP) para conservar el contenido de betalaínas en anaquel durante 6 meses.

Los extractos que no fueron copigmentados y concentrados presentaron una pérdida del 100% a partir del segundo día de extracción. Por lo que se deduce que las técnicas de copigmentación utilizadas favorecen la estabilidad de las betalaínas.

De los extractos obtenidos y analizados, el producto final seleccionado se considera aquel extracto que fue obtenido por prensa y fue copigmentado y concentrado, mostrando hasta 3% de contenido de betalaínas y estabilidad con vida de anaquel prolongada > 6 meses; a su vez, estabilidad en un rango de $\text{pH} < 6$, y temperatura < 100°C . En relación con los productos comercializados de betabel, se desconoce su vida de anaquel, y la temperatura reportada es < 50°C , por lo que en el producto obtenido se supera este rango.

Para especificar y precisar su aplicación es necesario continuar con la investigación, a fin de proporcionar mayores elementos que ayuden a fortalecer los resultados obtenidos.

FUENTES CONSULTADAS

- Alpizar-Reyes E., Varela-Guerrero V., Cruz-Olivares J., Carrillo-Navas H., Alvarez-Ramirez J. & Pérez-Alonso C., (2019). Microencapsulation of sesame seed oil by tamarind seed mucilage. *International Journal of Biological Macromolecules*. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.162>
- Antigo J. L. D., Bergamasco R. de C., & Madrona G. S. (2017). Effect of pH on the stability of red beet extract (*Beta vulgaris* L.) microcapsules produced by spray drying or freeze drying. *Food Science and Technology*, 38(1), 72–77.
- Arrazola G., Herazo I., Alvis A., (2014). Obtención y Evaluación de la Estabilidad de Antocianinas de Berenjena (*Solanum melongena* L.) en Bebidas. *Información Tecnológica* 25(3). doi: 10.4067/S0718-07642014000300007
- Arthikha R. & Madhanasundareswari K. (2019). Study on Optimization and Pigment Analysis of Beetroot (*Beta-Vulgaris*) and their Application as Natural Dyes. *International Journal of Innovative Science and Research Technology*. 4(3), 37-41
- Attia, Gamila Y., Moussa MEM. & Sheashea E.R. (2013). Characterization of red pigments extracted from red beet (*beta vulgaris*, L.) and its potential uses as antioxidant and natural food colorants. *Egypt. J. Agric. Res.*, 91(3) 1095-1109.
- Azeredo H. M. C. (2009). Betalains: properties, sources, applications, and stability - a review. *International Journal of Food Science & Technology*. 44(12), 2365–2376.
- Azeredo HMC (2005) Encapsulação: aplicação a tecnologia de alimentos. *Aliment. e Nutr.* 16: 89-97.
- Biancardi, E., McGrath, J. M., Panella, L. W., Lewellen, R. T., & Stevanato, P. (2010). Sugar Beet. *Root and Tuber Crops*, 173–219. doi:10.1007/978-0-387-92765-7_6.
- Cai Y., Sun M., Schliemann W. & Corke H. (2001). Chemical Stability and Colorant Properties of Betaxanthin Pigments from *Celosia argentea*. *J. Agric. Food Chem.* 49 (9), 4429-4435.
- Castro-Muñoz R., Barragán-Huerta B. E., & Yáñez-Fernández J. (2015). Use of gelatin-maltodextrin composite as an encapsulation support for clarified juice from purple cactus pear (*Opuntia stricta*). *LWT - Food Science and Technology*. 62(1), 242–248.

- Codex Alimentarius. Normas internacionales de los alimentos (2021).
<https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/search/es/?cx=018170620143701104933%3Aqq82jsfba7w&q=colorantes&cof=FORID%3A9>
- Darias-Martín, J., Carrillo, M., Díaz, E., & Boulton, R. B. (2001). Enhancement of red wine colour by pre-fermentation addition of copigments. *Food Chemistry*, 73(2), 217–220. doi:10.1016/s0308-8146(00)00286-7
- Díaz YL, Torres LS, Serna JA (2017) Efecto de la encapsulación en secado por atomización de biocomponentes de pitahaya amarilla con interés funcional. *Inf. Tecnol.* 28(6): 23-34.
- FAO. Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura. (2021). Acuerdo por el que se determinan los aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios, su uso y disposiciones sanitarias. <https://www.fao.org/faolex/results/details/es/c/LEX-FAOC114455>
- FDA. Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos. (2021). <https://www.fda.gov/about-fda/fda-en-espanol>
- Flores-Belmont I, Jiménez-Munguía M (2013) Microencapsulación de compuestos activos con quitosano. *Temas Sel. Ing. Aliment.* 7: 48-56.
- Flores M. M. A., Rentería M. A. L., Sánchez V. R. & Chávez M. A. (2019). Estructura y estabilidad de las betalainas. *Interciencia.* 44 (6), 318-325.
- Gallo-Nunura M, Cevallos-Vera M (2014) Estudio Comparativo de la Deshidratación del Aguaymanto (*Physalis peruvianum*) Mediante Atomización y Liofilización Utilizando Agentes Encapsulantes en la Retención de la Vitamina C. Tesis. Universidad Nacional Pedro Luis Gallo. Perú.
- Gandía-Herrero F., Cabanes J., Escribano J., García-Carmona F., & Jiménez-Atiénzar M. (2013). Encapsulation of the Most Potent Antioxidant Betalains in Edible Matrixes as Powders of Different Colors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 61(18), 4294–4302.
- Ghasempour Z., Javanmard N., Langroodi A. M., Alizadeh-Sani M., Ehsani A., Kia E. M. (2020). Development of probiotic yogurt containing red beet extract and basil

- seed. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*.
<https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101785>
- González-Sánchez J., Seijas-Bernabé N. & Seijas-Bernabé P. (2010). Efecto de la temperatura y luminosidad sobre la estabilidad de las betalaínas obtenidas de “betarraga”. *Sciéndo Ciencia para el Desarrollo*. 13 (10), 296- 303.
- Guevara-Breton NA, Jimenez-Munguia MT (2008) Materiales utilizados en la encapsulación. *Temas Selec. Ing. Aliment*. 2: 22-27.
- Huma S., Khan H. M. S., Sohail M., Akhtar N., Rasool F., Majeed F., & Daniyal M. (2020). Development, in-vitro characterization and assessment of cosmetic potential of Beta vulgaris extract emulsion. *Journal of Herbal Medicine*.
<https://doi.org/10.1016/j.hermed.2020.100372>
- Kumar S. N. A., Ritesh S. K., Sharmila G. & Muthukumaran C. (2017). Extraction optimization and characterization of water-soluble red purple pigment from floral bracts of *Bougainvillea glabra*. *Arabian Journal of Chemistry*. 10 (2), 2145–2150.
- Leong H.Y., Ooi C.W., Law C.L., Julkifle A.L., Pan G.-T. & Show P.L., (2018). Investigation of betacyanins stability from peel and flesh of red-purple pitaya with food additives supplementation and pH treatments. *LWT - Food Science and Technology*. doi: 10.1016/j.lwt.2018.09.021.
- Madene A, Jacquot M, Scher J, Desobry S (2006) Flavour encapsulation and controlled release - A review. *Int. J. Food Sci. Technol*. 41: 1-21.
- Manjunatha SS, Raju PS (2015) Rheological characteristics of reconstituted spray dried beetroot (*Beta vulgaris* L.) juice powder at different solid content, temperatures and carrier materials. *J. Int. Food Res*. 22: 2333-2345.
- Mahn A. V., Pérez C. E., Reyes A. E. (2017). Efecto de las Condiciones de Secado en Lecho Fluidizado Pulsante sobre el Contenido de Sulforafano de Brócoli. *Información Tecnológica*. 28(4), 17-28.
- Mirmiran, P., Houshialsadat, Z., Gaeini, Z., Bahadoran, Z., & Azizi, F. (2020). Functional properties of beetroot (*Beta vulgaris*) in management of cardio-metabolic diseases. *Nutrition & Metabolism*, 17(1). doi:10.1186/s12986-019-0421-0

- Mondragón R., Julia J. E., Barba A. & Jarque J. C. (2013). El proceso de secado por atomización: formación de gránulos y cinética de secado de gotas. *Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*. 52 (4), 159-168.
- Morales-Guzmán F. & Melgoza-Alemán R.M. (2009). Tratamiento del Colorante Azo Rojo Directo 23 mediante Reactores Discontinuos Secuenciados Anaerobios / Aerobios. *Información Tecnológica*. 20 (1), 73-82.
- Moßhammer M. R., Stintzing F. C., & Carle R. (2006). Evaluation of different methods for the production of juice concentrates and fruit powders from cactus pear. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 7(4), 275–287.
- Nistor O.-V., Seremet (Ceclu) L., Andronoiu D. G., Rudi L., & Botez E. (2017). Influence of different drying methods on the physicochemical properties of red beetroot (*Beta vulgaris* L. var. *Cylindra*). *Food Chemistry*. 236, 59–67.
- Nottingham S. 2004. Beetroot. 2a. ed. Ed. Quarterman, EUA. 148 p.
- Oberoi DPS, Sogi DS (2015) Effect of drying methods and maltodextrin concentration on pigment content of watermelon juice powder. *J. Food Eng.* 165: 172-178.
- Otálora M. C., de Jesús Barbosa H., Perilla, J. E. Osorio, C. & Nazareno M. A. (2019). Encapsulated betalains (*Opuntia ficus-indica*) as natural colorants. Case study: Gummy candies. *LWT - Food Science and Technology*. 103, 222-227
- Otegbayo B.O., Akwa I.M & Tanimola A.R. (2020). Physico-chemical Properties of beetroot (*Beta vulgaris* L.) Wine produced at varying fermentation days. *Scientific African*, doi: <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2020.e00420>
- Parra-Huertas R.A., (2011). Food microencapsulation: a review. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*. 63(2):5669-5684.
- Parra R.A. (2011). Revisión: Microencapsulación de Alimentos. *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín*. 63(2): 5669-5684.
- Parra V.P. & Martínez M.A. (2004). Estudio comparativo en el uso de colorantes naturales y sintéticos en alimentos, desde el punto de vista funcional y toxicológico (tesis de licenciatura). Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile.
- Pedroza-Islas R. (2002). Alimentos Microencapsulados: Particularidades de los procesos para la microencapsulación de alimentos para larvas de especies

- acuícolas. Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Cancún, Quintana Roo, México.
- Polturak G. & Aharoni A. (2018). "La Vie en Rose": Biosynthesis, Sources, and Applications of Betalain Pigments. *Molecular Plant*. 11(1), 7–22.
- Ravichandran K., Palaniraj R., Saw N. M. M. T., Gabr A. M. M., Ahmed A. R., Knorr D., & Smetanska I. (2012). Effects of different encapsulation agents and drying process on stability of betalains extract. *Journal of Food Science and Technology*. 51(9), 2216–2221.
- Robert P., Torres V., García P., Vergara C., & Sáenz C. (2015). The encapsulation of purple cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) pulp by using polysaccharide-proteins as encapsulating agents. *LWT - Food Science and Technology*. 60(2), 1039–1045.
- Rodríguez-Amaya D. B. (2018). Betalains. Reference Module in Food Science. doi:10.1016/b978-0-08-100596-5.21607-7
- Rodríguez-Amaya D. B. (2018). Update on natural food pigments - A mini-review on carotenoids, anthocyanins, and betalains. *Food Research International*. doi:10.1016/j.foodres.2018.05.028
- Román M., Aniceto C., Pineda S., Alatríste I., & Rivera V. (2014). Extracción y estudio cinético de la degradación de las betalaínas presentes en la bugambilia fucsia (*bougainvillea* sp), una alternativa como colorante alimentario. *Ciencias de la Ingeniería y Tecnología Handbook T-VI 4ª edición*, 51–62. Ecorfan México, México.
- Roriz C. L., Barreira J. C. M., Morales P., Barros L., & Ferreira I. C. F. R. (2018). *Gomphrena globosa* L. as a novel source of food-grade betacyanins: Incorporation in ice-cream and comparison with beet-root extracts and commercial betalains. *LWT - Food Science and Technology*. 92, 101–107.
- Saldaña Mier, L. 2004. Efecto de la copigmentación sobre la expresión de color en sistemas modelo de ciruela (*Prunus domestica*). Tesis Licenciatura. Quimicofarmacobiología. Departamento de Química y Biología, Escuela de Ciencias, Universidad de las Américas Puebla.
- Sánchez Juan R. (2013). La química del color en los alimentos. *Química Viva*. 12(3), 234-246.

- Sánchez-Chávez W., Cortez-Arredondo J., Solano-Cornejo M. & Vidaurre-Ruiz J. (2015). Cinética de degradación térmica de betacianinas, betaxantinas y vitamina C en una bebida a base de jugo de remolacha (*Beta vulgaris* L.) y miel de abeja. *Scientia Agropecuaria*. 6 (2), 111 – 118.
- Shaaruddin S, Ghazali HM, Mirhosseini SH, Muhammad K (2017) Stability of betanin in pitaya powder and confection as affected by resistant maltodextrin. *LWT - Food Sci. Technol.* 84(1): 129-134.
- Shishir M, Chen W (2017) Trends of spray drying: A critical review on drying of fruit and vegetable juices. *Trends Food Sci. Technol.* 65(1): 49-67.
- Soriano-Santos J., Franco-Zavaleta M.E., Pelayo-Zaldívar C., Armella-Villalpando M.A., Yáñez-López M.L. & Guerrero-Legarreta I. (2007). Caracterización parcial del pigmento rojo del fruto de la “Jiotilla” (*Escontria chiotilla* [Weber] Britton & Rose) *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 6 (1), 19-25.
- Stintzing F. C., Herbach K. M., Mosshammer M. R., Carle R., Yi W., Sellappan S., & Felker P. (2005). Color, Betalain Pattern, and Antioxidant Properties of Cactus Pear (*Opuntiaspp.*) Clones. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53(2), 442–451.
- Tiwari B. K., & Cullen P. J. (2012). Extraction of Red Beet Pigments. *Red Beet Biotechnology. Food and Pharmaceutical Applications*. doi:10.1007/978-1-4614-3458-0_14
- Tkaczyk A., Mitrowska K. & Posyniak A. (2020). Synthetic organic dyes as contaminants of the aquatic environment and their implications for ecosystems: A review, *Science of the Total Environment* <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137222>
- Trishitman, D., Negi, P. S., & Rastogi, N. K. (2021). Concentration of beetroot juice colorant (betalains) by forward osmosis and its comparison with thermal processing. *LWT*, 145, 111522. doi:10.1016/j.lwt.2021.111522
- Visockis, M., Bobinaitė, R., Ruzgys, P., Barakauskas, J., Markevičius, V., Viškelis, P., & Šatkauskas, S. (2021). Assessment of plant tissue disintegration degree and its related implications in the pulsed electric field (PEF)–assisted aqueous extraction of betalains from the fresh red beetroot. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 73, 102761. doi:10.1016/j.ifset.2021.102761

- Yang, W., Kaimainen, M., Järvenpää, E., Sandell, M., Huopalahti, R., Yang, B., & Laaksonen, O. (2021). Red beet (*Beta vulgaris*) betalains and grape (*Vitis vinifera*) anthocyanins as colorants in white currant juice – Effect of storage on degradation kinetics, color stability and sensory properties. *Food Chemistry*, 348, 128995. doi:10.1016/j.foodchem.2020.12899
- Yusuf M., Shabbir M. & Mohammad F. (2017). Natural Colorants: Historical, Processing and Sustainable Prospects. *Natural Products and Bioprospecting*. 7(1), 123–145.
- Zhao H., Ma Z., Jing P., (2020). Interaction of soy protein isolate fibrils with betalain from red beetroots: Morphology, spectroscopic characteristics and thermal stability. *Food Research International* <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109289>
- Zrýd J. P. & Christinet L. (2004). Betalains. En J. P. Zrýd y L. Christinet (Ed), *Plant Pigments and their Manipulation*. Vol.4 (p. 368). Laussane, Suiza: Wiley-Blackwell Publishing