



## Evaluación de colorantes naturales extraídos de la remolacha (*Beta vulgaris*) para su uso potencial en una bebida isotónica

Boscán Anzola, José Daniel y Pérez, Suhey

Universidad Metropolitana. Caracas-Venezuela

<https://orcid.org/0009-0001-3796-372X> [josedboscan26@gmail.com](mailto:josedboscan26@gmail.com)

<https://orcid.org/0000-0001-6199-9805> [sperez@unimet.edu.ve](mailto:sperez@unimet.edu.ve)

ASA/Artículo

doi: <http://doi.org/10.5281/zenodo.10389212>

Recibido: 26-05-2023

Aceptado: 01-12-2023

### RESUMEN

Con el objetivo de evaluar los colorantes extraídos de la remolacha (*Beta vulgaris*) para incorporarlos en una bebida isotónica, se realizó un trabajo de investigación en cuatro (4) fases. Estos colorantes, al ser de origen natural, son sustitutos ideales para los colorantes artificiales y se pueden aprovechar sus potenciales beneficios para la salud, como sus propiedades antioxidantes y anticancerígenas. La primera fase consistió en la caracterización fisicoquímica de la materia prima, con resultados de  $6,5 \pm 0,1$  de pH,  $5,0 \pm 0,7$  °Brix,  $0,048 \pm 0,004$  % de acidez titulable y  $89,8 \pm 0,4$  % de humedad. La segunda se dividió en dos etapas, selección de la mezcla de solventes y proporción vegetal: mezcla de solventes, se seleccionó la mezcla de proporciones en volumen 62: 37,7 : 0,3 de agua, etanol y ácido acético y la proporción vegetal : mezcla de solvente óptima fue la de relación 1:1, fueron extraídas con concentraciones (mg/L) de  $176 \pm 4$  y  $173 \pm 2$  las betacianinas y betaxantinas, respectivamente. Las antocianinas no fueron detectadas. En la fase tres (3) se formularon cuatro (4) bebidas isotónicas, obteniendo que la fórmula de mayor aceptabilidad era la de 0,1% de extracto de colorante. Para la fase final, las bebidas fueron almacenadas durante dos (2) semanas a temperatura ambiente (23°C) y se midió su color en el espacio LAB, el parámetro "L" aumentó a partir del segundo día de almacenamiento, mientras que el parámetro "a" disminuyó, en el caso de "b", presentó valores constantes para dos de las bebidas evaluadas. Se concluyó que los colorantes naturales extraídos de la remolacha pueden ser utilizados en la elaboración de una bebida isotónica.

**Palabras clave:** betacianinas, betalaínas, betaxantinas, bebida isotónica, colorantes naturales.



## Evaluation of natural dyes extracted from beets for their potential use in an isotonic drink

### ABSTRACT

With the objective of evaluating the dyes extracted from beetroots to incorporate them into an isotonic drink, a research work was conducted in four (4) phases. These dyes, being of natural origin, are ideal substitutes for artificial dyes and you can take advantage of their potential health benefits, such as their antioxidant and anti-cancer properties. The first phase consisted of the physicochemical characterization of the raw material, with results of  $6.5 \pm 0.1$  pH,  $5.0 \pm 0.7$  °Brix,  $0.048 \pm 0.004$  % of titratable acidity and  $89.8 \pm 0.4$  % humidity. The second was divided into two stages, selection of the mixture of solvents and the proportion vegetable: solvents mixture, the mixture of proportions by volume selected was 62:37.7: 0.3 of water, ethanol and acetic acid and the optimal vegetable: solvent mixture ratio was the 1:1 ratio, they were extracted with concentrations (mg/L) of  $176 \pm 4$  and  $173 \pm 2$  of betacyanins and betaxanthins, respectively. Anthocyanins were not detected. In phase three (3), four (4) isotonic drinks were formulated, obtaining that the formula with the highest acceptability was that of 0.1% dye extract. For the final phase, the drinks were stored for two (2) weeks at room temperature (23°C) and their color was measured in the LAB space, the "L" parameter increased from the second day of storage, while the parameter "a" decreased, in the case of "b", it had constant values for two of the drinks evaluated. It was concluded that the natural dyes extracted from beetroots can be used in the preparation of an isotonic drink.

**Keywords:** betacyanins, betalains, betaxanthins, isotonic drink, natural dyes.

## INTRODUCCIÓN

**E**n los tiempos actuales, es cada vez mayor la cantidad de personas que ponen atención a su dieta y los beneficios o problemas para la salud que pueden traer el consumo de ciertos alimentos y bebidas, siguiendo esa tendencia, los aditivos que se agregan a los alimentos, como son los colorantes, que suelen ser artificiales, están siendo desplazados por aquellos que son de origen natural (Yanchapanta, 2011).

Los colorantes son sustancias químicas extraídas de fuentes minerales, vegetales, animales o sintetizadas que buscan darle un color específico a los alimentos, (Belmonte *et al.* 2016). Gracias a las nuevas tendencias, productos a los que se incorporan colorantes naturales son más atractivos para el consumidor por su alta biodegradabilidad y baja toxicidad (Martínez & Pérez, 2019); no obstante, estos presentan dificultades para usarse, como lo son costos más altos, degradación rápida y sensibilidad alta a las características del ambiente (Menor, 2019).

Uno de estos colorantes naturales son las betalaínas, los cuales son abundantes en las

remolachas, este pigmento, como lo describe Orellana (2015), se divide en dos grupos: las betacianinas, responsables de la coloración roja y las betaxantinas, las cuales tienen tonalidades de amarillo, dichos pigmentos tienen beneficios para la salud, como lo son propiedades anticancerígenas y antioxidantes, las cuales previenen enfermedades en la vejez (Dias *et al.* 2020). Por otro lado, la remolacha es un cultivo de abundante oferta, pero genera considerables cantidades de residuos a lo largo de toda la cadena de producción y distribución.

Los colorantes naturales son ampliamente utilizados en la repostería, productos lácteos, salsas y demás productos alimenticios. Cabe destacar, que por sus beneficios para la salud son bien valorados para su uso en suplementos alimenticios para deportistas, como lo son las bebidas isotónicas (Salazar *et al.* 2019). De acuerdo con Gironés (2019), estas bebidas son productos diseñados para saciar la sed, rehidratar y reponer electrolitos después de la actividad deportiva, estas contienen carbohidratos, minerales, electrolitos (potasio, sodio, calcio y magnesio) y a veces vitaminas, adicional a otros aditivos como los colorantes.

El objetivo de este trabajo fue evaluar las betaxantinas y betacianinas extraídas de la remolacha (*Beta vulgaris*) para incorporarlas como colorantes en una bebida isotónica a base agua, limón y azúcar.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Fase 1. Caracterización de la remolacha:** Se seleccionaron remolachas frescas de un mercado local de la Ciudad de Caracas, las cuales fueron lavadas y cortadas previo a su utilización. La caracterización de la materia prima se realizó de acuerdo con los procedimientos establecidos en las normas COVENIN para la determinación de pH (1315-2021), sólidos solubles (924-83), acidez (1151-77) y humedad (1156-2017).

**Fase 2. Cuantificación de colorantes:** La cuantificación de betacianinas y betaxantinas se realizó en dos (2) etapas, las cuales se explican a continuación:

- **Etapas 1. Selección de mezcla de solventes**

Esta etapa consistió en establecer las proporciones en volumen de etanol, ácido acético y agua óptimas para la mezcla de solventes a implementar en la

extracción, se hizo una investigación previa para establecer las cantidades de cada sustancia, utilizando como referencia las utilizadas por Dias *et al.* (2020). Es importante mencionar que para garantizar que el extracto rico colorantes obtenido fuera apto para consumo humano, se empleó aguardiente Cantalicio 40° como fuente de etanol y vinagre Mavesa 5% como fuente de ácido acético.

- **Etapas 2. Selección de proporción vegetal:solvente**

En la Etapa 2 utilizó el software Design-Expert 13 y la mezcla de solventes seleccionada de la etapa 1, para establecer un diseño experimental de mezclas *simplex lattice*, cuadrático, de siete corridas, con el fin de optimizar la proporción vegetal:mezcla de solventes. Siguiendo lo establecido por Dias *et al.* (2020), Zin *et al.* (2020) y Salazar *et al.* (2019), en las mezclas del diseño, la proporción de vegetal siempre fue menor o igual a la de mezcla de solvente.

En las dos etapas se siguió la misma metodología para la cuantificación de los colorantes, esta consistió en reducir la remolacha a pequeños pedazos, estas permanecieron en reposo por 48 horas para luego ser filtradas y tomar una alícuota

de las soluciones preparadas para hacer un barrido espectral, estas fueron diluidas con el fin de obtener resultados de absorbancia menores a uno (1), el equipo utilizado fue un espectrofotómetro UV-visible thermoscientific Genesys 50. Para la determinación de la concentración de betacianinas y betaxantinas se consideraron las absorbancias a 480 nm y 536 nm (Zin *et al.*, 2020). Los contenidos de colorantes fueron calculados con la siguiente fórmula:

$$\text{Colorante} \left( \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \frac{A \times \text{DF} \times \text{MW} \times 1000}{\epsilon \times l}$$

A: Absorbancia medida

DF: Factor de dilución

MW: Peso molecular

550 g/mol para betacianinas

308 g/mol para betaxantinas

$\epsilon$ : Absorbidad molar

6,50e4 1/(M.cm) para betacianinas

4,80e4 1/(M.cm) para betaxantinas

l: Longitud del espacio por donde pasa el haz de luz

Adicional a las etapas antes mencionadas, se hizo la cuantificación de antocianinas, esta fue hecha basada en el procedimiento experimental de Lee (2005), el cual fue adaptado a las necesidades de este trabajo de investigación. Para la

determinación de la concentración de antocianinas se consideraron las absorbancias a 520 y 700 nm.

**Fase 3. Análisis sensorial:** Se formularon 4 bebidas que fueron sometidas a evaluación sensorial previa codificación con tres números aleatorios. La evaluación se llevó a cabo con la participación de 50 personas de la comunidad de la Universidad Metropolitana y se empleó como técnica la prueba monódica. Los jueces evaluaron la intensidad de los atributos de color, olor, dulzor, acidez en una escala hedónica de 9 puntos y la aceptabilidad usando la misma escala. La encuesta realizada fue previamente validada por 7 profesores de ingeniería química y metodología de la investigación, quienes por medio de un instrumento de evaluación calificaron en una escala del 1 al 7 el contenido y la forma de la encuesta aplicada en la evaluación sensorial.

La fórmula de las bebidas a evaluar se presenta en el Cuadro 1, esta se basó en la de Gironés *et al.* (2013).

**Cuadro 1. Formulación de la bebida isotónica.**

| Sustancia           | Cantidad        |
|---------------------|-----------------|
| Agua                | 94 %            |
| Limón               | 6 %             |
| Fosfato de Potasio  | 6,0 mg/100 mL   |
| Benzoato de Potasio | 16,0 mg/100 mL  |
| Cloruro de Sodio    | 20,0 mg/ 100 mL |
| Azúcar              | 10,00 g/ 100 mL |

Fuente: Elaboración propia

Con esta fórmula, se prepararon cuatro (4) bebidas en las que se varió el contenido de extracto rico en colorantes, tal como se muestra en el Cuadro 2.

**Cuadro 2. Contenido de colorantes en cada bebida isotónica.**

| Bebida | Concentración de colorante (%v/v) |
|--------|-----------------------------------|
| 1      | 0,00 %                            |
| 2      | 0,03 %                            |
| 3      | 0,10 %                            |
| 4      | 0,69 %                            |

Fuente: Elaboración propia.

## Análisis estadístico

Los resultados de la cuantificación de betacianinas y betaxantinas se presentan como promedio y desviación estándar. Para la comparación de medias se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) y prueba *a posteriori* Test de Tukey, se hizo uso de la versión estudiantil del software InfoStat versión 2020.

**Fase 4. Pruebas de color:** Se midió el color de las bebidas en el espacio de color CIELAB, una vez al día, durante 2 semanas. Las bebidas fueron almacenadas a temperatura ambiente y sin agitación en frascos de vidrio con tapa. Las pruebas de color se hicieron colocando 20,00 mL de cada una de las bebidas en cápsulas Petri, la medición se hizo en una caja de luz utilizando la función de espacio de color LAB de la aplicación móvil ColorMeter. Adicionalmente, se tomaron las medidas de los espectros de luz visible con un espectrofotómetro UV-visible Genesys 50 thermoscientific.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Fase 1: Caracterización de la remolacha

Los resultados obtenidos de la caracterización fisicoquímica se encuentran en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Características fisicoquímicas de la remolacha.

| Prueba                   | Promedio ±<br>desviación estándar |
|--------------------------|-----------------------------------|
| Humedad (%)              | 89,8 ± 0,4                        |
| Sólidos solubles (°Brix) | 5,0 ± 0,7                         |
| pH                       | 6,5 ± 0,1                         |
| Acidez (%)               | 0,048 ± 0,004                     |

Fuente: Elaboración propia

Gómez y Duque (2018) obtuvieron un resultado de  $88,22 \pm 0,13$  % de humedad para la materia prima, valor que es muy aproximado al obtenido, además, Pitalúa (2007) menciona que la humedad de la remolacha puede estar entre 80 y 90 %. Gómez y Duque (2018) también muestran resultados de sólidos solubles (°Brix) de  $5,6 \pm 0,5$ . El pH obtenido también es cercano al de investigaciones anteriores, como la realizada por Alvarez y Veliz (2015), quienes determinaron un pH de 6,6 en las muestras analizadas. El resultado de la acidez se

expresa como el porcentaje de ácido cítrico, lo cual está en concordancia con lo encontrado por Gómez y Duque (2018), quienes reportan que la acidez se encuentra en el rango de 0,03 a 0,06 % al aplicar tratamiento térmico previo en la muestra. En base a los resultados obtenidos de la caracterización fisicoquímica, se concluyó que los valores están dentro de los rangos esperados.

Fase 2: Cuantificación de colorantes

- Etapa 1 Selección de mezcla de solventes

En el Cuadro 4 se presenta el diseño experimental para la selección del solvente.

Para la preparación de las mezclas con 60% y 80% de volumen de etanol fue necesario hacer una destilación fraccionada del etanol. Se determinó el grado alcohólico del destilado utilizando un alcoholímetro Brewing America, se obtuvo un grado alcohólico de 85°.

La preparación de los extractos ricos en colorantes utilizando las mezclas de solventes del Cuadro 4 se hicieron basados en el procedimiento descrito por Gironés *et al.* (2013).

**Cuadro 4. Proporciones de volumen de agua: etanol: ácido acético.**

| Mezcla<br><br>de solvente | Proporción                     |
|---------------------------|--------------------------------|
|                           | agua: etanol: ácido<br>acético |
| 1                         | 99,7: 0: 0,3                   |
| 2                         | 94,5: 5: 0,3                   |
| 3                         | 70: 29,7: 0,3                  |
| 4                         | 66,66: 33: 0,33                |
| 5                         | 62: 37,7: 0,3                  |
| 6                         | 62: 37,7: 0,3 rep              |
| 7                         | 39,7: 60: 0,3                  |
| 8                         | 19,7: 80: 0,3                  |

Fuente: Elaboración propia

En el Cuadro 5 se observan los resultados de la cuantificación de los contenidos de betacianinas y betaxantinas para cada una de las mezclas de solvente planteadas en la Etapa 1.



**Cuadro 5. Contenido de betacianinas (btc) y betaxantinas (btx) en mg/L para cada una de las mezclas de solvente de la Etapa 1.**

| Mezcla de solvente | btc $\pm$ desviación estándar | btx $\pm$ desviación estándar |
|--------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 1                  | 86,7 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>   | 107 $\pm$ 3 <sup>a</sup>      |
| 2                  | 91 $\pm$ 2 <sup>a</sup>       | 107 $\pm$ 2 <sup>a</sup>      |
| 3                  | 157 $\pm$ 4 <sup>b</sup>      | 167 $\pm$ 2 <sup>f</sup>      |
| 4                  | 195 $\pm$ 3 <sup>d</sup>      | 215 $\pm$ 2 <sup>e</sup>      |
| 5                  | 204 $\pm$ 2 <sup>d</sup>      | 217 $\pm$ 1 <sup>e</sup>      |
| 6                  | 180 $\pm$ 3 <sup>c</sup>      | 195 $\pm$ 2 <sup>d</sup>      |
| 7                  | 181 $\pm$ 7 <sup>c</sup>      | 184 $\pm$ 5 <sup>c</sup>      |
| 8                  | 183 $\pm$ 2 <sup>c</sup>      | 173 $\pm$ 2 <sup>b</sup>      |

\* Las determinaciones se hicieron por triplicado. Se aplicó ANOVA. Letras diferentes en una misma columna indican diferencias estadísticas significativas ( $p > 0.05$ ), según test Tukey

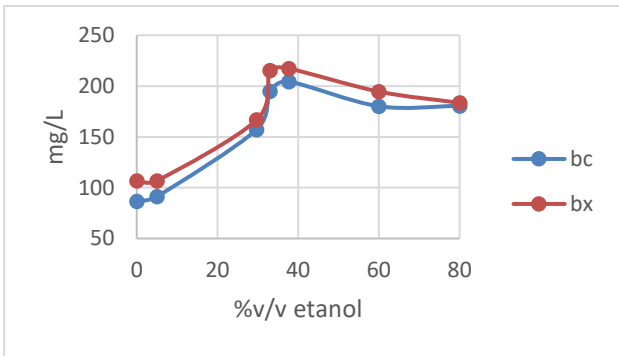
En base a los resultados obtenidos, se observa que las mezclas con menores concentraciones de etanol (mezclas 1 y 2) fueron las que arrojaron cantidades de colorantes extraídos más bajas. A partir de la mezcla 3, correspondiente a 29,7% de etanol, se obtuvieron concentraciones de betacianinas y betaxantinas más altas, esta tendencia de aumento de mantuvo hasta la mezcla de 37,7% de etanol, después las cantidades extraídas disminuyeron para las mezclas con concentración de 60 y 80 % de etanol. Los medios de extracción más comunes para la obtención de betalaínas son soluciones de

metanol y etanol acidificadas (Menor, 2019), se decidió usar una solución de etanol acidificada con ácido acético porque los colorantes extraídos fueron agregados a una bebida isotónica destinada para consumo humano, no se usó metanol o ácidos fuertes porque estos son tóxicos y representan un riesgo para la salud.

La extracción máxima se obtuvo en la mezcla de solvente 5, la cual corresponde a las proporciones en volumen de 62: 37,7: 0,3 de agua, etanol y ácido acético, respectivamente. No obstante, es importante mencionar que la mezcla 4 con una

concentración de 33 % de etanol en volumen arrojó resultados muy cercanos al máximo obtenido en el presente estudio con la mezcla 5. Partiendo de lo anterior, se debe indicar que los obtenidos concuerdan con lo señalado por Menor (2019) en su investigación, es decir, soluciones con concentraciones de etanol mayores al 30% no suponen una mejoría notable en la extracción de los colorantes, sin embargo, la extracción máxima

se alcanza en concentraciones cercanas al 40%. Esto se aprecia mejor en la Figura 1, a partir del punto que corresponde a la mezcla de solvente 3, las cantidades extraídas de betacianinas y betaxantinas aumentan de forma notable y en los puntos correspondientes a mezclas 4 y 5, los resultados obtenidos no presentan diferencias estadísticas según la prueba Tukey.



**Figura 1. Gráfica de contenido de betacianinas (bc) y betaxantinas (bx) en mg/L en función del volumen de etanol en el solvente (%v/v etanol).**

Fuente: Elaboración propia

Después de comparar con los resultados de Menor (2009), se seleccionó la mezcla de solvente 5, la cual correspondía a la mezcla de solventes 62:37,7:0,3 en volumen de agua, etanol y ácido acético, respectivamente, debido que esta es la que

presentó mayores cantidades extraídas de colorantes.

• **Etapa 2. Selección de proporción vegetal:solvente**

En el Cuadro 6 se muestra el diseño experimental generado a partir del software *Design-Expert*.

**Cuadro 6. Proporciones masa vegetal: mezcla de solvente.**

| No. de corrida | Proporción vegetal: solvente |
|----------------|------------------------------|
| 1              | 1:1                          |
| 2              | 1:1,353                      |
| 3              | 1:2,636                      |
| 4              | 1:1,857                      |
| 5              | 1:4                          |
| 6              | 1:4                          |
| 7              | 1:1                          |

Fuente: Elaboración propia

La configuración del diseño incluyó dos corridas adicionales para verificar repetibilidad de los resultados de la extracción, en este caso se repitieron las corridas 1 y 5, que corresponden a las muestras con mayor y menor cantidad de masa de vegetal. Cada una de las corridas fue utilizada para la extracción de colorantes con la mezcla de solvente seleccionada de la Etapa 1, se siguió el

mismo procedimiento de extracción y cuantificación de betacianinas y betaxantinas que en la etapa anterior, pero con las proporciones vegetal: mezcla de solvente del Cuadro 6.

En el Cuadro 7 se muestran los resultados de la cuantificación de los contenidos de betacianinas y betaxantinas del diseño experimental de la Etapa 2.

**Cuadro 7. Contenido de betacianinas (btc) y betaxantinas (btx) en mg/L para cada una de las corridas de la Etapa 2.**

| No. de corrida | btc ± desviación estándar | btx ± desviación estándar |
|----------------|---------------------------|---------------------------|
| 1              | 176 ± 4 <sup>e</sup>      | 173 ± 2 <sup>g</sup>      |
| 2              | 143 ± 5 <sup>d</sup>      | 146 ± 3 <sup>f</sup>      |
| 3              | 92 ± 3 <sup>b</sup>       | 95 ± 2 <sup>c</sup>       |
| 4              | 112 ± 1 <sup>c</sup>      | 112 ± 1 <sup>d</sup>      |
| 5              | 53 ± 3 <sup>a</sup>       | 53 ± 2 <sup>a</sup>       |
| 6              | 63 ± 5 <sup>a</sup>       | 64 ± 3 <sup>b</sup>       |
| 7              | 144,3 ± 0,5 <sup>d</sup>  | 145,5 ± 0,3 <sup>f</sup>  |

Fuente: Elaboración propia.

La tendencia observada en los resultados es que a medida que aumenta la cantidad de vegetal en la dispersión, el contenido de colorante en el extracto es más alto. Las corridas 5 y 6, correspondientes a las dispersiones de proporción 1:4 son las que obtuvieron las concentraciones de betacianinas y betaxantinas más bajas, a partir de la mezcla con proporción 1:2,636 (corrida 3), las concentraciones

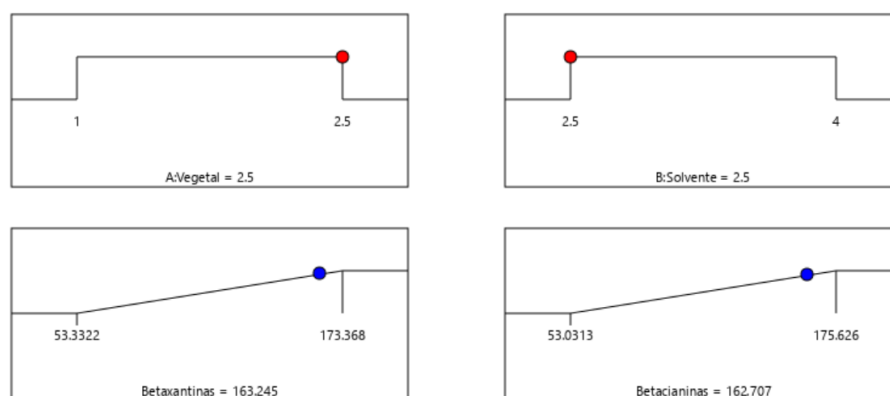
de los colorantes aumentaron notablemente. Con la prueba Tukey se puede apreciar que no hay diferencias estadísticas entre los dos ensayos para las dispersiones de proporción 1:4, pero las de 1:1, corridas 1 y 7, esto se atribuye a variaciones en el grado de maduración o de las condiciones durante cultivo y almacenamiento previo a la adquisición del lote de remolachas usado para el desarrollo

experimental, por lo que no se puede garantizar repetibilidad.

Otro resultado que es necesario destacar es el de la corrida 4 con proporción 1:1,857, esta es el que tenía la proporción vegetal: mezcla de solvente más aproximada a la de la Etapa 1 con proporción 1:2, la mezcla de solventes seleccionada de esa etapa fue la 5, la cual obtuvo concentraciones de  $204 \pm 2$  mg/L de betacianinas y  $217 \pm 1$  mg/L de betaxantinas, mientras que en la Etapa 2, usando la misma mezcla de solventes, se obtuvo

concentraciones de  $112 \pm 1$  mg/L para ambos colorantes. Los resultados observados pueden ser atribuidos a factores tales como diferencias en las condiciones agroecológicas de los lotes usados.

Con los resultados obtenidos, utilizando el software se hizo una optimización numérica para establecer la proporción vegetal: mezcla de solvente 5 en la que se alcanza la mayor extracción de betacianinas y betaxantinas. Los resultados se muestran en la Figura 2.

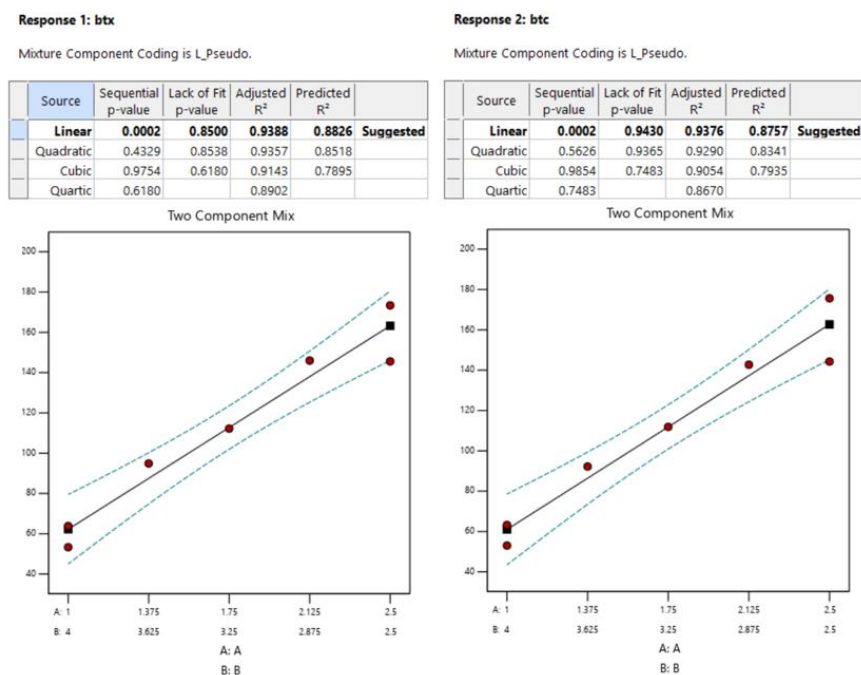


**Figura 2. Resultados obtenidos del software Design-Expert para la proporción de soluto:solvente óptima.**

La estimación del software indicó que la extracción máxima se alcanza cuando la proporción vegetal: mezcla de solventes es 1:1, este fue el único resultado obtenido y tuvo una

deseabilidad de 0,905; adicionalmente, el modelo se ajusta a un modelo lineal para ambos colorantes (Figura 3). En base a los resultados obtenidos, se

seleccionó la corrida 1 del diseño experimental para la extracción.

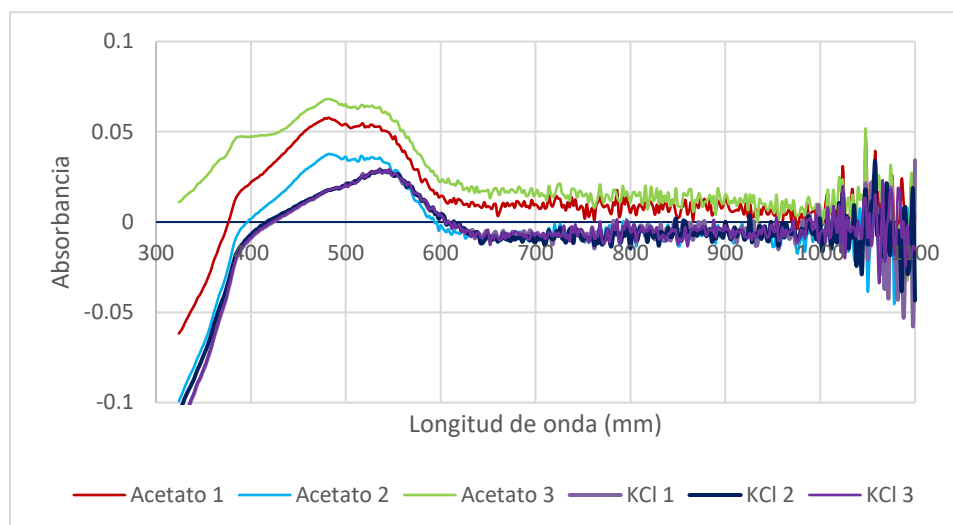


**Figura 3. Resumen de ajuste y modelo gráfico de las respuestas de betaxantinas (izquierda) y betacianinas derecha).**

- **Prueba de antocianinas**

Los resultados obtenidos a los contenidos de antocianinas en las muestras de remolacha sirvieron para verificar si estas están presentes o no

en las remolachas usadas. En la Figura 4 se presentan los espectros UV-visible de las corridas del extracto rico en colorantes disuelto en las soluciones de cloruro de potasio y acetato de sodio.



**Figura 4. Gráfico de Absorbancia en función de la Longitud de Onda para la determinación de la concentración de antocianinas. Fuente: Elaboración propia.**

Se puede observar en la Figura 4 que no hay picos de absorbancia en 700 nm ni 520 nm, estos aparecerían en presencia de antocianinas, como no es el caso, se concluyó que en el vegetal estudiado no hay presencia de antocianinas. Este resultado tiene sentido porque las betalaínas (betacianinas y betaxantinas) y antocianinas son mutuamente excluyentes, es decir, en presencia de una, la otra está ausente, se pueden presentar casos en los que los dos colorantes puedan existir en un mismo vegetal, pero no suele ser el caso (Nazareno, 2013).

### Fase 3: Análisis sensorial

Los resultados de la revisión de la encuesta aplicada para el análisis sensorial se pueden observar en el Cuadro 8.

**Cuadro 8. Resultados de la validación de la encuesta.**

| Parámetros |                           | Resultados |
|------------|---------------------------|------------|
| Forma      | Claridad                  | 6,1        |
|            | Escala                    | 6,4        |
|            | Ortografía                | 7,0        |
|            | Presentación              | 6,7        |
|            | Tamaño de letra           | 6,6        |
|            | Orden                     | 7,0        |
| Contenido  | Coherencia                | 7,0        |
|            | Identificar las variables | 7,0        |

Fuente: Elaboración propia.

En base a los resultados obtenidos, los contenidos eran coherentes y las variables a evaluar, fáciles de identificar. Respecto a su forma, todos los parámetros tuvieron un promedio de puntuación mayor a 6, por lo que la encuesta era adecuada para aplicarse.

En el Cuadro 9 se muestran los resultados de la intensidad de los atributos de color, olor, dulzor y acidez, junto a la desviación estándar de cada uno

| <b>Cuadro 9. Intensidad de atributos sensoriales.</b> |                        |                    |                    |                        |
|-------------------------------------------------------|------------------------|--------------------|--------------------|------------------------|
| <b>Fórmula</b>                                        | <b>1</b>               | <b>2</b>           | <b>3</b>           | <b>4</b>               |
| Color                                                 | 1,1 ± 0,5 <sup>a</sup> | 3 ± 1 <sup>b</sup> | 6 ± 1 <sup>c</sup> | 8,6 ± 0,6 <sup>d</sup> |
| Olor                                                  | 3 ± 2 <sup>a</sup>     | 3 ± 2 <sup>a</sup> | 4 ± 2 <sup>b</sup> | 6 ± 2 <sup>c</sup>     |
| Dulzor                                                | 5 ± 2 <sup>a</sup>     | 5 ± 2 <sup>a</sup> | 5 ± 2 <sup>a</sup> | 5 ± 2 <sup>a</sup>     |
| Acidez                                                | 4 ± 2 <sup>a</sup>     | 3 ± 2 <sup>a</sup> | 4 ± 2 <sup>a</sup> | 4 ± 2 <sup>a</sup>     |

Fuente: Elaboración propia.

No hubo diferencias estadísticas en la intensidad del dulzor y acidez, resultado que es lógico porque solo se varió el contenido de colorante, la formulación de todas las bebidas era la misma, por lo que tenían la misma cantidad de azúcar y jugo de limón; las muestras con mayor intensidad del atributo de olor fueron las bebidas 3 y 4, lo cual se debe al contenido de extracto rico en colorantes agregado, en el caso de la 4 hubo algunos encuestados que comentaron sobre el olor intenso a remolacha, lo cual indica que en el extracto se obtuvieron sustancias volátiles responsables de olor. Con relación al color, se observa concordancia entre el contenido de extracto y la intensidad del color, encontrándose diferencias estadísticas en todas las fórmulas.

En el Cuadro 10 se presentan lo promedios de aceptabilidad de las fórmulas, no encontrándose diferencias estadísticas. Lo cual hace que los resultados deban analizarse considerando la

frecuencia de selección de los diferentes puntos en la escala.

**Cuadro 10. Aceptabilidad de las fórmulas de bebida isotónica.**

| <b>Bebida</b> | <b>Promedio</b>    |
|---------------|--------------------|
| 1             | 7 ± 2 <sup>a</sup> |
| 2             | 6 ± 2 <sup>a</sup> |
| 3             | 6 ± 2 <sup>a</sup> |
| 4             | 6 ± 2 <sup>a</sup> |

Fuente: Elaboración propia.

Se agruparon los puntos de la escala de 1 a 3 como “Disgusto”, del 4 al 6 “Indiferencia” y del 7 al 9 “Agrado”. A partir de las nuevas valoraciones mencionadas, se contabilizaron las respuestas en cada una de las categorías y se determinó su valor porcentual (Cuadro 11).

**Cuadro 11. Resultados de aceptabilidad de cada bebida isotónica.**

| Bebida | %Disgusto | %Indiferente | %Agrado |
|--------|-----------|--------------|---------|
| 1      | 8         | 40           | 52      |
| 2      | 10        | 37           | 53      |
| 3      | 2         | 42           | 56      |
| 4      | 16        | 50           | 34      |

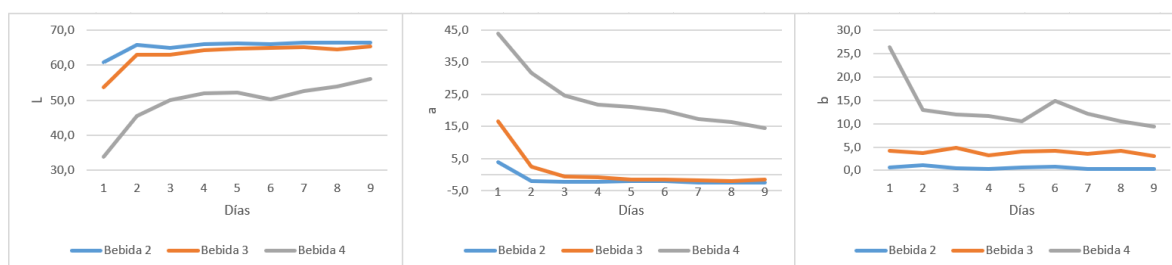
Fuente: Elaboración propia.

Con los resultados del Cuadro 11 se puede observar que el porcentaje de agrado para las bebidas 1, 2 y 3 es superior al 50%, mientras que el de la 4 es 34%, por lo que esta última no fue considerada para la selección de la formulación con mayor aceptabilidad. La bebida 3 muestra la menor frecuencia de puntajes en la zona de desagrado (2%), por lo cual se puede inferir que esta es la fórmula más inocua a nivel sensorial. Por

otra parte, dado que el promedio de aceptabilidad de esta fórmula es 6, es considerada que tiene potencial para ser comercialmente viable (Moskowit *et al.*2004).

#### Fase 4: Pruebas de color

En la Figura 5 se presentan las gráficas en las que se observan los cambios de los tres parámetros de color del espacio de color Lab o CIELAB, el parámetro “L” se refiere a la luminosidad, donde 0 es negro y 100 es blanco; “a” indica color verde si tiene valores negativos y si son positivos es rojo; y “b”, cuando tiene valores negativos indica color azul y positivos es amarillo. Se hicieron un total de 9 mediciones en días diferentes a lo largo de dos semanas.



**Figura 5. Gráficos del análisis de color en el espacio de color LAB. De izquierda a derecha: grafica del parámetro “L”, gráfica del parámetro “a” y gráfica del parámetro “b”. Fuente: Elaboración propia.**



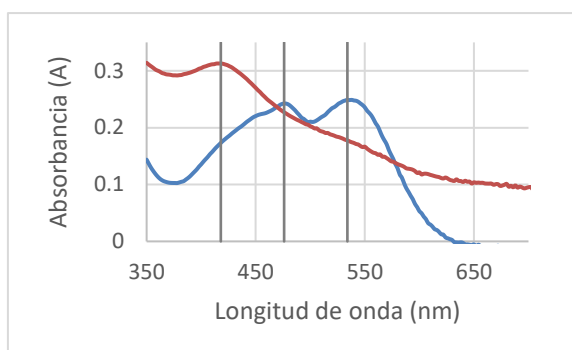
A partir de los gráficos presentados en el Figura 5, se observa que hay cambios inmediatos en los parámetros de color en el segundo día de almacenamiento, esto se debe a la degradación de las betalaínas, en este caso el factor externo que tiene influencia más notable es la temperatura, en la ciudad de Caracas, para los días del 20 de enero al 3 de febrero de 2023, era en promedio 23°C, llegando a bajar un poco durante la noche, pero sin llegar a las 4°C que es donde estos colorantes son más estables. La tendencia de las gráficas indica un cambio de color de la solución al disminuir el valor de “a” mientras que la luminosidad aumenta; después del segundo día se observó un comportamiento constante en los parámetros evaluados, salvo con la bebida 4, según se observa en la gráfica, refleja cambios permanentes hasta el tercer día para luego permanecer constante en todos los criterios: “L”, “a” y “b”. Es importante destacar que el parámetro “b” para las bebidas 2 y 3 siempre fue constante. En la Figura 6 se observa la coloración de las bebidas en el último día de las mediciones de color.



**Figura 6. Bebidas isotónicas en el último día de las mediciones de color. De derecha a izquierda, bebidas 1, 2, 3 y 4 Fuente: Elaboración propia.**

La manera principal para retrasar la degradación de los colorantes es mediante refrigeración, también se puede aplicar la microencapsulación con maltodextrina, la cual los protege de la acción de los factores externos que propician la degradación, adicional a la estabilidad que les brinda el ácido cítrico proveniente del limón a los colorantes. Otro factor que contribuye a la estabilidad de las betalaínas es la inactivación de enzimas presentes en la misma remolacha, lo cual se puede hacer aplicando calor (Orellana, 2015).

En la Figura 7 se observa la gráfica de absorbancia en función de la longitud de onda para la bebida 3, correspondientes a la bebida recién preparada ( $t = 0$ ) y la bebida almacenada por 12 días.



**Figura 7. Gráfica de absorción en función de longitud de onda de la bebida 3. --- t = 0; ---- t = 12 días.**

**Fuente: Elaboración propia.**

En la curva correspondiente a  $t = 0$  de la Figura 7, se pueden observar dos picos de absorción, los cuales corresponden a las betaxantinas en 536 nm y betacianinas en 480 nm. Por otra parte, en la curva correspondiente  $t = 12$ , se pueden observar un máximo de absorción en 424 nm, lo cual indica la presencia de otra sustancia que se podría inferir se trate de un producto de la degradación de las betalaínas. Mueller *et al.* (1997) estudiaron la biosíntesis de las betalaínas, demostrando que se obtenían como productos la muscaflavina y el ácido betalámico, el cual presentó un máximo de absorción en 424 nm. Los autores explicaron la aparición del ácido betalámico al ser este un producto de la degradación de la betacianinas en medios de pH ácido, en el caso de este estudio, la solución en la que se agregaron los colorantes era ácida

por el limón. Adicionalmente, Herbach *et al.* (2006) plantean que la reacción de degradación ocurrida fue la ruptura del enlace de la aldimina en la molécula y que el ácido betalámico le da un color amarillo a la solución donde esté presente.

## CONCLUSIONES

Se lograron incorporar los colorantes naturales extraídos de la remolacha en una fórmula de bebida isotónica y los potenciales consumidores la encontraron aceptable, sin embargo, esta no cumple con las condiciones necesarias para ser comercializada.

La caracterización fisicoquímica de la remolacha usada para la investigación arrojó un pH de  $6,5 \pm 0,1$ , los sólidos solubles eran  $5,0 \pm 0,7$  °Brix, la acidez se encontró en  $0,048 \pm 0,004$  % y la humedad de la materia prima fue  $89,8 \pm 0,4$  %.

De la Etapa 1 se seleccionó la mezcla de solventes con proporción en volumen 62: 37,7: 0,3 de agua, etanol y ácido acético, respectivamente, con concentraciones (mg/L) de  $204 \pm 2$  de betacianinas y  $217 \pm 1$  de betaxantinas; de la Etapa 2, se seleccionó la proporción masa vegetal : mezcla de solventes 1:1, con concentraciones (mg/L) de  $176 \pm 4$  y  $173 \pm 2$  de betacianinas y betaxantinas,

respectivamente. Adicionalmente, no se encontraron antocianinas al hacer las pruebas de pH diferencial.

No hubo diferencias estadísticas en los resultados del análisis sensorial para el dulzor y acidez de las cuatro bebidas isotónicas elaborados, el color de cada una se diferenciaba de las otras, el olor era más evidente en las bebidas con más cantidad de colorante y la de mayor aceptabilidad la tuvo la que tenía 0,1 % de extracto rico en colorantes.

Con las pruebas de color en el espacio de color Lab se observaron cambios en el segundo día de almacenamiento. Para las bebidas 2, 3 y 4 hubo disminución en el parámetro “a” y aumento en “L”, en el caso de “b” solo hubo disminución en la bebida 4. También se identificó que la sustancia generada producto de la degradación de las betalaínas fue el ácido betalámico.

## REFERENCIAS

- Alvarez, R. y Veliz, J. (2015). *Microencapsulación del extracto de betanina del Beta vulgaris por atomización y evaluación de sus propiedades funcionales como colorante natural*. Universidad Nacional del Centro del Perú. <http://hdl.handle.net/20.500.12894/1930>
- Belmonte, J. L., Arroyo, I., Vázquez, M., Cruz, D., y Peña, E. (2016). Colorantes artificiales en alimentos. *Revista Naturaleza y Tecnología*. 10 (15). Obtenido de <http://quimica.ugto.mx/index.php/nyt/article/view/204>
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (2022). Alimentos. Determinación del pH (Acidez Iónica) (COVENIN 1315-2021). <https://sigbs.sencamer.gob.ve/cgi-bin/koha/opac-retrieve-file.pl?id=61ec330cd0abb242cb43d0c0cdc8e9ec>
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (2017). Alimentos para animales. Determinación de Humedad (COVENIN 1156-2017). <https://sigbs.sencamer.gob.ve/cgi-bin/koha/opac-retrieve-file.pl?id=6663986fcb7ebd0396a2a245a052886a>
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (1977). Determinación de Acidez titulable.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (1983). Determinación de Sólidos Solubles.
- Dias, S., Castanheira, E., Fortes, G., Pereira, D., y Goncalves, S. (2020). *Natural Pigments of Anthocyanin and Betalain for Coloring Soy-Based Yogurt Alternative*. *Foods*, 9(6), 771. doi:10.3390/foods9060771
- Gironés, A., Moreno, D., Garcia, C., y Villaño, D. (2013). *New isotonic drinks with antioxidant and biological capacities from berries (maqui, açai and blackthorn) and lemon juice*. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 64(7), pp. 897-906. Obtenido de [https://www.researchgate.net/publication/244479059\\_New\\_isotonic\\_drinks\\_with\\_antioxidant\\_and\\_biological\\_capacities\\_from\\_berries\\_maqui\\_acai\\_and\\_blackthorn\\_and\\_lemon\\_juice](https://www.researchgate.net/publication/244479059_New_isotonic_drinks_with_antioxidant_and_biological_capacities_from_berries_maqui_acai_and_blackthorn_and_lemon_juice)
- Gómez, M. y Duque, Al. (2018). *Caracterización fisicoquímica y contenido fenólico de la remolacha (Beta vulgaris L.) en fresco y sometida a tratamiento térmico*. *Rev. ion* [online]. 2018, vol.31, n.1, pp. 43-47. ISSN 0120-100X. <https://doi.org/10.18273/revion.v31n1-2018007>
- Herbach, K. M., Stintzing, F. C., y Carle, R. (2006). *Impact of Thermal Treatment on Color and*
- Agroindustria, Sociedad y Ambiente/ ISSN: 2343-6115/ Vol.21 N° 2/ julio-diciembre 2023/Barquisimeto, Venezuela/ Universidad Centroccidental “Lisandro Alvarado” pp. 05-24.

- Pigment Pattern of Red Beet (Beta vulgaris L.) Preparations. Journal of Food Science*, 69(6), pp.491–498. doi:10.1111/j.1365-2621.2004.tb10994.x
- Lee, J., Durst, R., Wrolstad, R., et al. (2005). *Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study, Journal of AOAC INTERNATIONAL*, Volume 88(5), pp.1269–1278. <https://doi.org/10.1093/jaoac/88.5.1269>
- Martínez, D., y Pérez, H. (2019). *Extracción y Evaluación de un Colorante Natural a partir de la Semilla del Aguacate (Persea americana) para el Teñido de diferentes fibras textiles*. Trabajo de fin de grado en Ingeniería Química. Universidad Metropolitana, Caracas. Obtenido de <http://biblioteca.unimet.edu.ve/anexos/tesis/texto/Post.php?Tesis=ATTP155M386.pdf&Cota=ATTP155M386&mfn=016913>
- Menor, L. (2019). *Intensificación de la extracción de betanina en remolacha roja mediante ultrasonidos y pulsos eléctricos*. Trabajo de fin de Grado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Universidad Politécnica de Valencia, Valencia. Obtenido de <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/121680/Menor%20-%20Intensificaci%C3%B3n%20de%20la%20extracci%C3%B3n%20de%20betanina%20en%20remolacha%20roja%20mediante%20ultrasonidos%20y%20pu....pdf?sequence=1>
- Moskowit, H., Muñoz, A., y Gacula, M. (2004). *Viewpoints and Controversies in Sensory Science and Consumer Product Testing*. Wiley-Blackwell. ISBN: 978-0-917-67857-8
- Mueller, L. A., Hinz, U., y Zryd, J.-P. (1997). *The formation of betalamic acid and muscaflavin by recombinant dopa-dioxygenase from Amanita. Phytochemistry*, 44(4), pp. 567–569. doi:10.1016/s0031-9422(96)00625-5
- Nazareno, M. A. (2013). *Pigmentos extraídos de tunas como colorantes alimentarios con propiedades funcionales*. UNSE- Cactusnet FAO ICARDA. [https://www.conicet.gov.ar/new\\_scp/detalle.p](https://www.conicet.gov.ar/new_scp/detalle.p)
- Agroindustria, Sociedad y Ambiente/ ISSN: 2343-6115/ Vol.21 N° 2/ julio-diciembre 2023/Barquisimeto, Venezuela/ Universidad Centroccidental “Lisandro Alvarado” pp. 05-24.
- hp?keywords=&id=37395&congresos=yes&detalles=yes&congr\_id=2512580#:~:text=La%20betacianina%20m%C3%A1s%20conocida%20es,presencia%20est%C3%A1%20mucho%20m%C3%A1s%20limitada
- Orellana, L. (2015) Extracción y caracterización de los pigmentos naturales presentes en Beta vulgaris (remolacha) para la propuesta de una formulación cosmética y evaluación de su estabilidad fisicoquímica y microbiológica. Licenciatura thesis, Universidad de San Carlos de Guatemala. [http://www.repositorio.usac.edu.gt/889/1/06\\_3717.pdf](http://www.repositorio.usac.edu.gt/889/1/06_3717.pdf)
- Pitalúa, E. (2007). *Estudio de las Propiedades Fisicoquímicas y Antioxidantes de jugo de betabel (Beta vulgaris L) secado por aspersión*. Universidad Veracruzana. <http://cdigital.uv.mx/handle/123456789/46919>
- Salazar, K., Flores, L., Coba, R., y Brito, H. (2019). *Obtención de Betacianinas de la Remolacha (Beta vulgaris)*. *Ciencia Digital*, 3(3.4), pp. 228-238. doi:<https://doi.org/10.33262/cienciadigital.v3i3.4..849>
- Yanchapanta, D. (2011). *Obtención de un colorante natural la betalaina a partir de la remolacha (beta vulgaris) para su aplicación en alimentos y bebidas, sin que sus propiedades organolépticas (sabor y olor) afecten su utilidad*. Universidad Técnica de Ambato. <http://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/1764>
- Zin, M. M., Márki, E., y Bánvlygyi, S. (2020). *Coventional Extraction of Betalain Compounds from Beetroot peels with Aqueous Ethanol Solvent. Acta Alimentaria*, 49(2), pp. 163-169. doi:10.1556/066.2020.49.2.5