

**UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ**

**Colegio de Posgrados**

**Extracción de betalainas a partir de remolacha, encapsulación y evaluación de su estabilidad en una matriz alimentaria**

**Proyecto de investigación y desarrollo**

**Erika Estefanía Merchán Pesántez**

**José Francisco Álvarez Barreto, Ph.D.**

**Director del Trabajo de Titulación**

**Lucía de los Ángeles Ramírez Cárdenas, Ph.D.**

**Directora del Trabajo de Titulación**

Trabajo de titulación de posgrado presentado como requisito para la obtención del título de Magister en Ciencia y Tecnología de Alimentos.

Quito, 21 de diciembre de 2022

**Universidad San Francisco de Quito**

**Colegio de posgrados**

**HOJA DE APROBACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN**

**Extracción de betalainas a partir de remolacha, encapsulación y  
evaluación de su estabilidad en una matriz alimentaria.**

**Erika Estefanía Merchán Pesántez**

Nombre del Director del Programa:	Lucía de los Ángeles Ramírez Cárdenas
Título académico:	Ph.D.
Director del programa de:	Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos.
Nombre del Decano del colegio Académico:	Eduardo Alba Cabrera
Título académico:	Ph.D.
Decano del Colegio:	Ciencias e Ingenierías.
Nombre del Decano del Colegio de Posgrados:	Hugo Burgos Yánez.
Título académico:	Ph.D.

Quito, diciembre 2022

## © **DERECHOS DE AUTOR**

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en la Ley Orgánica de Educación Superior del Ecuador.

Nombre del estudiante:	Erika Estefanía Merchán Pesántez
Código de estudiante:	00322934
C.I.:	0105298293
Lugar y fecha:	Quito, 21 de diciembre de 2022.

## **ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN**

Nota: El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing, disponible en <http://bit.ly/COPETHeses>.

## **UNPUBLISHED DOCUMENT**

Note: The following graduation project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing available on <http://bit.ly/COPETHeses>.

## Dedicatoria

A mi hermano Mathías por ser luz en mi vida y creer siempre en mí.

Y

A mi abuelita Sabina, yo sé que estas muy orgullosa de mí.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a la vida por darme la oportunidad de poder seguir formándome académicamente.

A mis padres Luis y Raquel por su apoyo incondicional.

A mis abuelos por su amor y por siempre estar pendientes de mí.

A mis tutores Lucía Ramírez y José Álvarez por su guía, sus consejos y paciencia.

A mis compañeros de maestría por todos los momentos compartidos, por su apoyo y amistad.

A los profesores de maestría por su dedicación y conocimientos brindados.

## RESUMEN

Las betalaínas están formadas por betacianinas y betaxantinas, responsables del color (rojo-violeta) de la remolacha y con potencial aplicación como colorantes alimentarios. En este trabajo se evaluó la extracción y la encapsulación de betalaínas provenientes de la remolacha mediante liofilización y ultrasonido. Además, se estudió la estabilidad de las betalaínas encapsuladas durante 28 días y su cinética de degradación en el agua y yogurt. Se realizaron tres diseños experimentales aleatorizados con arreglos factoriales para determinar las mejores condiciones de extracción de betalaínas asistida por ultrasonido, cuantificar la eficiencia de encapsulación (asistida por ultrasonido y mediante liofilización) y finalmente evaluar la estabilidad de algunos tratamientos de encapsulación junto con la cinética de degradación, constante de velocidad de reacción y el tiempo de vida media en las matrices alimentarias. El contenido de betalaínas fue determinado por espectroscopia UV-VIS. Los datos fueron evaluados por Análisis de Varianza (ANOVA) y prueba de separación de medias al 95% de confianza. El mejor tratamiento para la extracción fue cuando se partió de una concentración de remolacha de 1,33 % (p/v), con un rendimiento de  $26,03 \text{ mg/g} \pm 2,47$ . La eficiencia de encapsulación estuvo un rango de 19 a 94%. En la estabilidad de las betalaínas se observó que, únicamente la matriz alimentaria fue significativa en la retención del pigmento y la degradación de las betalaínas se ajustaron a una cinética de primer orden. Las betalaínas tienen un potencial como colorantes alimenticios además de los efectos funcionales importantes en el desarrollo de productos alimenticios.

Palabras claves: Betalaínas, extracción, encapsulación, ultrasonido, cinética, degradación.

## ABSTRACT

Betacyanins and betaxanthins form betalains, which are responsible for the colour (red-violet) of beet. These pigments have potential applications as food colourants. This work evaluated the extraction and encapsulation of betalains from beet by freeze-drying and ultrasound. In addition, the stability of the encapsulated betalains for 28 days and their degradation kinetics in water and yogurt were studied. Three randomized experimental designs with factorial arrangement were performed to determine the best conditions for ultrasound-assisted extraction of betalains, to quantify the encapsulation efficiency (ultrasound-assisted and freeze-drying) and finally to evaluate the stability of some encapsulation treatments together with the degradation kinetics, reaction rate constant and half-life time in food matrices. The betalain content was determined by UV-VIS spectroscopy. Data were evaluated by analysis of variance (ANOVA) and mean separation test at 95% confidence. It was determined that the best treatment for extraction is to use a beet concentration of 1.33 % (w/v), with a yield of  $26.03 \text{ mg/g} \pm 2.47$ . As for the encapsulation efficiency, it was in the range of 19% to 94%. In the stability of the betalains, it was observed that only the food matrix was significant in pigment retention and the degradation of betalains followed first-order kinetics. Betalains have potential as food colorants in addition to important functional effects in the development of food products.

Key words: Betalains, extraction, encapsulation, ultrasound, kinetics, degradation.

**TABLA DE CONTENIDO**

<b>RESUMEN.....</b>	<b>6</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>7</b>
<b>INDICE DE TABLAS.....</b>	<b>9</b>
<b>INDICE DE FIGURAS.....</b>	<b>10</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>11</b>
<b>METODOLOGÍA.....</b>	<b>17</b>
<b>1. Materiales.....</b>	<b>17</b>
<b>2. Tratamiento de la muestra.....</b>	<b>17</b>
<b>3. Diseños experimentales.....</b>	<b>17</b>
<b>3.1 Extracción de betalaínas.....</b>	<b>17</b>
<b>3.2 Encapsulación.....</b>	<b>19</b>
<b>3.3 Adición del encapsulado a una matriz alimentaria y evaluación de su estabilidad en tiempo real.....</b>	<b>21</b>
<b>4. Análisis estadístico.....</b>	<b>23</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>24</b>
<b>1. Extracción de betalaínas a partir de remolacha.....</b>	<b>24</b>
<b>2. Encapsulación.....</b>	<b>27</b>
<b>3. Estabilidad de las betalaínas encapsuladas.....</b>	<b>31</b>
<b>Cinética de degradación de betalaínas.....</b>	<b>37</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>42</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>43</b>
<b>INDICE DE ANEXOS.....</b>	<b>51</b>

**INDICE DE TABLAS**

Tabla 1. Tratamientos de encapsulación .....	20
Tabla 2. Constante de velocidad (K) y tiempo de vida media para betalaínas durante el almacenamiento .....	40

**INDICE DE FIGURAS**

Figura 1. Rendimiento de extracción de betalaínas.....	25
Figura 2. Eficiencia de encapsulación de los tratamientos aplicados .....	29
Figura 3. Estabilidad de las betalaínas encapsuladas durante el almacenamiento .....	33
Figura 4. Estabilidad de betalaínas en el yogurt durante 28 días .....	34
Figura 5. Estabilidad de betalaínas en el agua durante 18 días .....	35
Figura 7. Gráficas de la cinética de degradación de las betalaínas.....	39

## INTRODUCCIÓN

El color de los alimentos es uno de los atributos más importantes y uno de los primeros que los consumidores perciben debido a que lo asocian con la calidad, frescura y sabor, entre otros. Por lo tanto, determina el nivel de aceptabilidad y juega un papel relevante en el éxito del producto en el mercado (Jurić et al., 2020).

Los colorantes alimentarios son aditivos que permiten reemplazar, mejorar y minimizar las variaciones de color entre los lotes de producción (Coulter & Blackburn, 2018). Los cuales pueden ser naturales o sintéticos de acuerdo con su origen, siendo los primeros los preferidos por los consumidores debido a los efectos negativos en la salud que tienen los colorantes sintéticos, principalmente reacciones alérgicas o manifestaciones de intolerancia, especialmente en niños (Coulter & Blackburn, 2018 ;Ribeiro & Veloso, 2021). Por lo que actualmente es una necesidad tener opciones de colorantes naturales y con menos efectos adversos.

Los pigmentos de origen vegetal han ganado interés debido a las nuevas tendencias por el consumo de alimentos naturales que, además de aportar color al producto le proporcionan compuestos bioactivos que tienen efectos positivos en la salud de la población (Chen et al., 2021).

Las betalaínas son unos de estos pigmentos, y se encuentra en varios vegetales; sin embargo, la remolacha es la que destaca con un rango entre 10.26 - 17.15 mg/g de betalaínas en materia seca en diferentes variedades (Sawicki et al., 2016). Este contenido puede verse afectado por factores como la variedad, las condiciones de cultivo (temperatura durante el periodo de crecimiento, fertilidad del suelo, humedad del suelo, etc.), así como también las condiciones postcosecha como la temperatura de almacenamiento, exposición a la luz y humedad, entre otros (Esatbeyoglu et al., 2015).

Las betalaínas son pigmentos hidrosolubles, que se dividen en dos grupos: betacianinas (rojo-violeta) y betaxantinas (amarillo-naranja). Las betacianinas en su estructura constan de ácido betalámico y la molécula ciclo-3,4-dihidroxifenilalanina (ciclo-DOPA) que, unido por glicosilación o acilación puede dar una gran variedad de betacianinas. La principal en la remolacha es la betanina, que se caracteriza por tener una molécula de glucosa unida al ciclo-DOPA (Herbach et al., 2006).

Las betaxantinas, en cambio, están formadas por el ácido betalámico y una molécula de aminoácido o amina. Dependiendo de la estructura particular del compuesto amino unido al ácido betalámico, se forman los diferentes tipos de betaxantinas (Stintzing y otros 2002). La betaxantina más común y frecuentemente tratada es la glutamina-betaxantina (vulgaxantina I), la principal en la remolacha roja (*Beta vulgaris L.*) (Herbach et al., 2006).

Además de aportar color a los alimentos, se han descrito varias funciones biológicas de las betalaínas, en especial en la prevención de enfermedades crónicas como la diabetes, obesidad y enfermedades cardiovasculares (Chen et al., 2021).

Los efectos biológicos de las betalaínas se deben a su poder antioxidante. Algunos estudios han demostrado incluso que la capacidad de eliminación de radicales libres de la betanina en la remolacha es casi dos veces mayor que la de algunas antocianinas en circunstancias de  $\text{pH} > 4$  (Borkowski et al., 2005). La capacidad de eliminación de radicales libres y la alta actividad antioxidante de la betalaína están relacionadas con la presencia de grupos hidroxifenólicos en su estructura, así como a los enlaces insaturados del anillo bencénico (Porto et al., 2017; Vulić et al., 2012). Por otro lado, estos compuestos han demostrado que, mediante la inhibición de la

proliferación celular, la promoción de la apoptosis y la autofagia son las principales formas en que la remolacha podría ayudar a inhibir la formación y el desarrollo del cáncer (Chen et al., 2021).

A pesar de sus numerosos beneficios para la salud, las betalaínas tienen limitaciones en su aplicación como colorante alimentario, debido a que no son estables a condiciones de procesamiento como el tratamiento térmico; el calentamiento hace que la betanina se descomponga en ácido betalámico y ciclo-DOPA-5-O-b-glucósido (Gengatharan et al., 2015). Se ha informado también que son inestables en presencia de luz, oxígeno, alta actividad de agua y temperatura ( $> 50\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). No obstante, tienen la característica de ser relativamente estables a un rango de pH de (3-7), lo que hace que puedan ser potencialmente aplicados en una amplia variedad de alimentos (Li et al., 2022).

La tecnología de encapsulación es uno de los métodos más eficaces para proteger los compuestos bioactivos en el ámbito alimentario, porque estos compuestos inestables se atrapan en matrices (agentes encapsulantes) más estables y se blindan de la influencia de factores externos, minimizando alteraciones en su estructura y en su actividad biológica (Ribeiro & Veloso, 2021). Existen diferentes métodos de encapsulación; los más utilizados son: secado por aspersion (spray drying), extrusión, emulsificación y liofilización (Li et al., 2022).

La liofilización es la técnica más adecuada para la deshidratación de los materiales sensibles al calor y también se emplea en la encapsulación. La encapsulación por liofilización consiste en mezclar el núcleo en la solución del material encapsulante y posteriormente liofilizar esta mezcla (Desai & Park, 2005). Esta operación multietapa estabiliza los materiales mediante tres operaciones principales, la congelación, la sublimación y desorción (Ezhilarasi et al., 2013).

Se ha empleado ultrasonido en el proceso de microencapsulación debido a que es una herramienta de dispersión, que puede mejorar la transferencia de masa y el área de contacto entre

dos fases mediante la producción de fenómenos de cavitación. Como consecuencia de la cavitación, se mejora la uniformidad de la mezcla bifásica y se reduce el tamaño de las partículas de la microcápsula, lo que puede mejorar la eficacia y la estabilidad de la encapsulación (Li et al., 2022). Además, puede promover las interacciones (fuerzas hidrofóbicas y enlaces covalentes) entre compuestos en el sistema de dispersión de la solución (Cui et al., 2019).

El ultrasonido tiene varias aplicaciones en la industria alimentaria y una de ellas es la extracción de los pigmentos naturales. Este tipo de extracción se denomina extracción verde, debido a que se reduce o elimina el uso de solventes orgánicos, se disminuye el tiempo de extracción y evita los residuos del solvente en el extracto (Tiwari, 2015). En la extracción sólido-líquido de pigmentos, el ultrasonido mediante las ondas acústicas va a producir fenómenos de cavitación. Por medio de la propagación y las impulsiones de las burbujas producidas por la cavitación de forma repetitiva en el medio, provocan la fragmentación de la superficie de la muestra. Esta alteración crea micro canales que mejoran la penetración del disolvente y proporcionan una mayor área de contacto para la transferencia de masa del material sólido al solvente (Silva et al., 2020a; Tiwari, 2015).

Entre los agentes encapsulantes más comúnmente empleados se encuentra la maltodextrina, principalmente por su bajo costo y capacidad de formar matrices como material encapsulante. Se han descrito materiales que combinados con maltodextrina resultan en mayores rendimientos en la encapsulación, estas son la goma Guar, pectina y goma xanthan (Ravichandran et al., 2013). Es importante considerar la relación núcleo-pared porque esta influye directamente en la eficiencia de la encapsulación y en la estabilidad de los compuestos (Hasani et al., 2015).

Las betalaínas de la remolacha pueden utilizarse eficazmente para colorear diferentes alimentos como los productos lácteos (ej. yogurt), helados, aderezos para ensaladas, caramelos

duros y masticables de fruta, glaseados, mezclas para pasteles, sustitutos de la carne, embutidos de carne de ave, mezclas para refrescos y bebidas en polvo, etc (Jurić et al., 2020). Aunque, la aplicación de betalaínas en alimentos es limitada debido a su escasa estabilidad, como se mencionó anteriormente, y a las fuertes interacciones con los ingredientes alimentarios por lo que se ha venido estudiando la estabilidad de estos pigmentos en las diferentes matrices alimentarias (Gengatharan et al., 2015; Jurić et al., 2020).

En la aplicación de pigmentos naturales a matrices alimentarias es importante realizar un estudio de la cinética química que estos siguen ya que, permite determinar las condiciones de operaciones ideales en el procesamiento y predecir el comportamiento dinámico en el alimento para futuras aplicaciones (Silva et al., 2020).

La evaluación de la estabilidad térmica y de almacenamiento de las betalaínas añadidas en sistemas alimentarios reales durante el procesamiento es crucial para estimar la vida útil de los productos alimenticios coloreados y la potencia de los colorantes naturales añadidos. Los parámetros cinéticos de vida media y la constante de velocidad de reacción permiten conocer el tiempo en el que la concentración del pigmento se reduce a la mitad y la proporcionalidad entre los cambios de concentración en un tiempo dado (Van Boekel, 2008).

#### **Objetivo General:**

Realizar la extracción y encapsulación de betalaínas con diferentes combinaciones de materiales encapsulantes por medio de liofilización con asistencia de ultrasonido y evaluar su estabilidad en agua y yogurt.

#### **Objetivos específicos:**

- Determinar el rendimiento de extracción de betalaínas de los diferentes tratamientos.
- Investigar la eficiencia de encapsulación de los tratamientos aplicados.

- Evaluar la retención de las betalaínas encapsuladas en el agua y yogurt durante el almacenamiento.
- Determinar parámetros cinéticos de degradación de las betalaínas

## METODOLOGÍA

### 1. Materiales

Se empleó la raíz de la remolacha roja (*Beta vulgaris L.*) adquirida en un supermercado de Quito-Ecuador. Se eligieron las remolachas en buen estado y sin daños en la superficie. En la encapsulación, como material de pared se usó maltodextrina comercial DE (28-32) adquirida en Laquin Cia. Ltda. y pectina cítrica marca *Loba Chemie*, grado de esterificación (63%-66%). En el análisis de estabilidad agua purificada y yogurt natural bebible elaborado con leche entera y sin azúcar, disponible comercialmente en supermercados.

### 2. Tratamiento de la muestra

Las remolachas fueron lavadas con agua potable, picadas y trituradas en un molino de carne modelo TJQ-22(S). Posteriormente, fueron deshidratadas mediante calor y liofilización.

En el caso del secado por calor se usó un horno deshidratador Magic mill MFD-7070 a 45°C durante 12 horas; y para la liofilización las muestras fueron previamente congeladas y liofilizadas por 48 horas en el liofilizador Biobase BK-FD10 (-65°C y presión menor a 10 Pa). El producto deshidratado fue pulverizado en un molino para granos (High speed multifuntion comminutor 2000A), y se obtuvo un polvo con tamaño de partícula de 20 mesh.

### 3. Diseños experimentales

#### 3.1 Extracción de betalaínas

Para conocer las mejores condiciones de extracción, se aplicó un diseño experimental completamente aleatorizado con arreglo factorial 2x3 (6 tratamientos). El primer factor fue el tipo de deshidratación (liofilización y calor) que debe ser controlado ya que las betalaínas son compuestos termolábiles (Fernández-López et al., 2018). El segundo factor fue la concentración de la remolacha (1,33%, 2% y 4% p/v) debido a que influye en la difusión del solvente en el material sólido y en la transmisión de las ondas en el medio (Kulkarni & Rathod, 2014). Se realizaron 3 repeticiones, y se obtuvo 18 corridas experimentales. El rendimiento de betalaínas por gramo de muestra fue la variable de respuesta evaluada y se esperaba el más alto posible.

Para la extracción de betalaínas se utilizó 25ml de disolución (1,33%, 2%, 4% p/v de remolacha en 25 ml de agua), en el sonicador Qsonica Q55 (amplitud 50%, potencia de 55 watts, frecuencia 20 kHz), durante 30 minutos, en un baño de hielo. El extracto fue centrifugado a 1878 g por cinco minutos, filtrado y almacenado en refrigeración a 4 °C protegido de la luz.

### ***Cuantificación de betalaínas***

La concentración de betalaínas en los extractos se realizó de acuerdo con el método de Li et al. (2022), con algunas modificaciones. Se diluyó el extracto en una proporción 1:10 con agua destilada. Se midió la absorbancia en el espectrofotómetro UV-Vis (CECIL CE 2041), de las betacianinas y las betaxantinas a una longitud de onda de 538 nm y 480 nm, respectivamente. La concentración de betalaínas y el rendimiento de extracción fue calculado usando las ecuaciones 1 y 2 (Righi Pessoa da Silva et al., 2018; Silva et al., 2020a).

$$\text{Concentración de betalaínas (ml/l)} = \frac{A \times FD \times MM \times 1;000}{e \cdot 1} \quad (1)$$

En donde A es la absorbancia, FD es el factor de dilución y l es la longitud de la cubeta. Las masas moleculares (MM) y los coeficientes de extinción molar (e) son: MM = 550 g/mol, e = 60,0 l/mol cm en agua de betacianina y MM = 308 g/mol, e = 48,0 l/mol cm de agua de betaxantinas.

$$\text{Rendimiento de extracción (mg/g)} = \frac{(C_{bc} + C_{bx}) \cdot V}{m} \quad (2)$$

En donde C<sub>bc</sub> es la concentración de betacianinas, C<sub>bx</sub> concentración betaxantinas, V es el volumen de agua destilada y m el peso de remolacha empleado en la extracción.

### 3.2 Encapsulación

Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado con arreglo factorial 2x3x3 (18 tratamientos), que correspondió a la combinación de: concentración de pectina (0% y 5% respecto a la maltodextrina), concentración de maltodextrina (10%, 15%, 20% p/v) y la proporción entre extracto y la mezcla de polímeros maltodextrina-pectina (1:1, 1:2; 2:1) (Dong et al., 2011)(Tabla 1). Se realizaron 3 repeticiones, y se obtuvo 54 corridas experimentales. Los niveles de los factores fueron concentraciones comúnmente empleadas cuando se combinan maltodextrina y gomas (Ravichandran et al., 2014) y las relaciones para evitar cambios en la morfología de las partículas (Dong et al., 2011).

La variable de respuesta fue la eficiencia de la encapsulación, definida por la relación entre la concentración inicial de betalaínas en la matriz polimérica antes de la encapsulación y la concentración de betalaínas después de la encapsulación (Li et al., 2022).

Se realizó la encapsulación con la técnica de ultrasonido y siguió las metodologías de Li et al. (2022) y Ravichandran et al. (2014) (Li et al., 2022; Ravichandran et al., 2014) con algunas

modificaciones. Se disolvió los polímeros en agua destilada a 60°C hasta la disolución completa con agitación magnética. Estas soluciones fueron almacenadas en refrigeración a 4 °C durante 24 horas para asegurar la hidratación del material encapsulante. El extracto fue mezclado con la solución de polímeros en el agitador orbital por 5 minutos. A las muestras que contenían el extracto y la mezcla de polímeros se aplicó el tratamiento con ultrasonido en el sonicador Qsonica Q55 (amplitud 50%, potencia de 55 watts, frecuencia 20 kHz) durante 5 minutos, luego fueron ultracongeladas -37 °C durante 12 horas y liofilizadas (Liofilizador BIOBASE BK-FD10) por 48 horas (-65°C y presión menor a 10 Pa). Durante todo el proceso de encapsulación se protegió a las muestras de la luz. El producto final fue almacenado en bolsas de aluminio tipo ziploc preservado de la luz.

**Tabla 1.** Tratamientos de encapsulación

Tratamiento	Maltodextrina (% p/v)	Relación extracto: mezcla polimérica	Pectina (% respecto a la concentración de maltodextrina)
1	10	1:1	0
2	10	2:1	0
3	10	1:2	0
4	10	1:1	5
5	10	1:2	5
6	10	2:1	5
7	15	2:1	0
8	15	1:1	0
9	15	1:2	0
10	15	2:1	5
11	15	1:1	5

12	15	1:2	5
13	20	1:1	0
14	20	1:2	0
15	20	2:1	0
16	20	1:2	5
17	20	1:1	5
18	20	2:1	5

### *Contenido de betalaínas.*

De acuerdo a la metodología de Li et al. (2022), a 10 ml de agua destilada se añadió 0,2 g del producto liofilizado, y la mezcla se homogenizó en vortex durante 1 minuto; y se centrifugó a 1878 g durante 5 minutos. Se cuantificó el contenido de betalaínas en el sobrenadante mediante espectroscopia UV-VIS, con la ecuación (1). La eficiencia de la encapsulación fue calculada con la ecuación 3.

$$\text{Eficiencia de encapsulación (\%)} = \frac{C_o - C_f}{C_o} * 100 \quad (3)$$

En donde  $C_o$  es la concentración de betalaínas inicial en los 0,2 g,  $C_f$  es la concentración de betalaínas del sobrenadante.

### **3.3 Adición del encapsulado a una matriz alimentaria y evaluación de su estabilidad en tiempo real**

Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2x2, con factores: tipo de matriz alimentaria (yogurt y agua) y pigmento liofilizado con dos tratamientos distintos realizados en la etapa de encapsulación, E1 (10% maltodextrina, 1:1 extracto: encapsulante, 0% pectina) y

E11 (15 % maltodextrina, 1:1 extracto: encapsulante, 5% pectina) Se realizaron 3 réplicas y se obtuvo 12 corridas. Estas muestras fueron evaluadas durante 28 días, tiempo de vida útil promedio del yogurt (Chandan, 2017). En este periodo se analizó la concentración de cada una de las muestras pasando un día y se determinó la retención de betalaínas expresada en porcentaje (variable de respuesta).

#### ***Aplicación del pigmento al yogurt natural y agua.***

Según la metodología propuesta por Fernández-López et al. (2018), se añadió 15 g de liofilizado por cada kilogramo de matriz, yogurt o agua. Las muestras fueron homogenizadas durante 10 minutos en un agitador orbital y almacenadas en un recipiente protegido de la luz a temperatura de refrigeración 4°C. Se tomaron alícuotas cada 48 horas durante 28 días para el análisis de estabilidad.

#### ***Análisis de estabilidad.***

Para monitorear la degradación de los pigmentos de las betalaínas en las matrices alimentarias agua y yogurt, se analizaron muestras en el espectrofotómetro, como se especificó anteriormente, y la concentración se calculó a través de la ecuación (1). En el caso del agua, la medición se realizó directamente diluyendo la muestra en agua destilada. Para el yogurt, las alícuotas se centrifugaron a 1878 g durante 15 minutos, y se analizó el contenido de betalaínas presentes en el suero (sobrenadante) (Jouki et al., 2021), que fue filtrado y se midió la absorbancia de igual manera que en el agua.

#### ***Cinética de degradación de las betalaínas.***

Los parámetros cinéticos: orden de reacción, constantes de velocidad (k) y tiempo de vida media ( $t_{1/2}$ ) se obtuvieron mediante el método integral (Fogler, 1999) ecuaciones (4),(5),(6) y (7).

Este método utiliza un procedimiento de ensayo y error para encontrar el orden de reacción. Si el orden supuesto es correcto, la gráfica apropiada de los datos de concentración-tiempo [concentración frente a tiempo (orden cero),  $\ln$  concentración frente a tiempo (primer orden) y  $1/\text{concentración}$  frente al tiempo (segundo orden)] debe ser lineal. Se seleccionó el resultado con el mejor coeficiente (R).

$$C - C_0 = -kt \quad (4) \quad \text{Orden cero}$$

$$\ln C/C_0 = -kt \quad (5) \quad \text{Primer orden}$$

$$1/C - 1/C_0 = kt \quad (6) \quad \text{Segundo orden}$$

$$t_{1/2} = \ln 2/k \quad (7) \quad \text{Tiempo de vida media}$$

Donde  $C$  es la concentración de reactivo en un momento dado,  $C_0$  es la concentración inicial de reactivo,  $k$  es la constante de velocidad,  $t$  es el tiempo del tratamiento.

#### **4. Análisis estadístico**

Todos los experimentos se realizaron con tres réplicas independientes ( $n=3$ ). Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente mediante un análisis de varianza multifactorial (ANOVA) y prueba de diferencias de medias de Tukey, con el programa Minitab Statistical Software Versión 21.1.0 (Minitab versión 18, Minitab Inc., USA) y un nivel de confianza del 95% ( $p < 0,05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este estudio se realizó la extracción y encapsulación de betalaínas asistida por ultrasonido. En la encapsulación se evaluó diferentes materiales encapsulantes y relaciones entre el núcleo y el material de pared. Y finalmente se analizó la estabilidad de las betalaínas encapsuladas en agua y yogurt.

### 1. Extracción de betalaínas a partir de remolacha

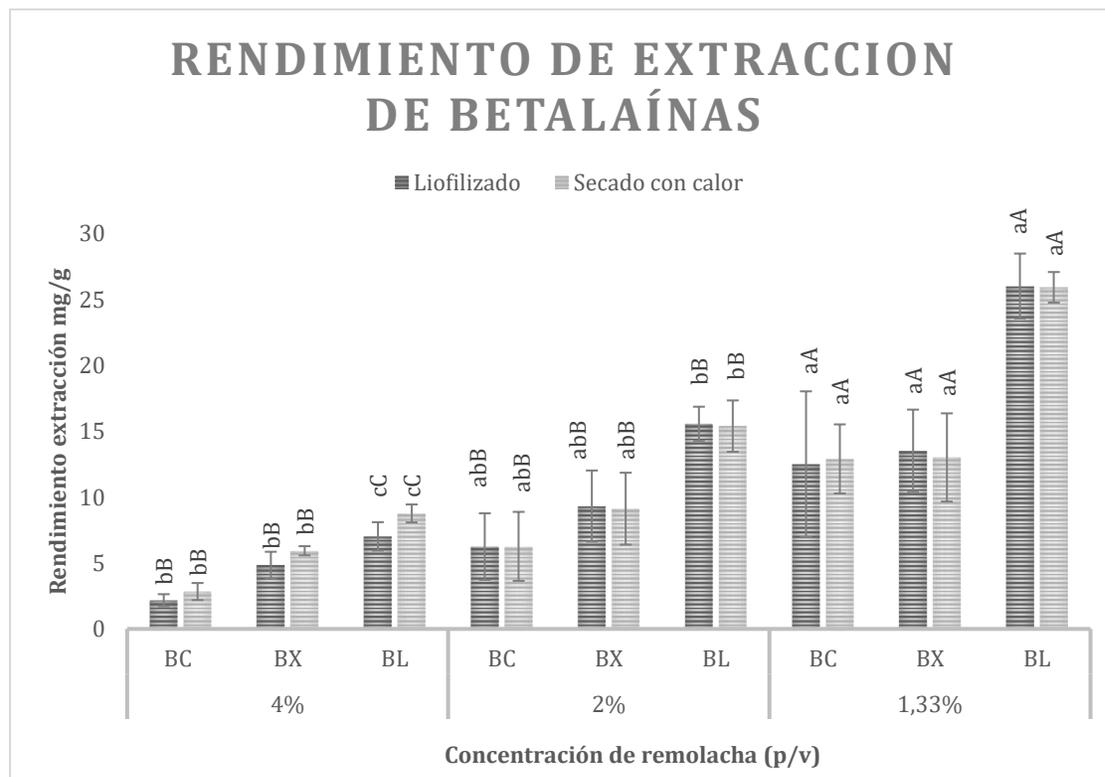
En la primera parte del estudio se realizó la extracción de betalaínas a partir de la remolacha para conocer el/ los tratamientos con el rendimiento más alto de extracción.

El análisis de varianza (ANOVA) mostró que la única variable con efecto significativo sobre el rendimiento de extracción fue la concentración de remolacha ( $p < 0.05$ ). Por el contrario, ni el tipo de secado ni la interacción de los dos factores afectó la variable ( $p > 0.05$ ) (Anexo A).

De acuerdo con los efectos de las variables en el modelo (Anexo B), se observó una relación inversa entre la concentración de remolacha y el rendimiento. Al disminuir la concentración de muestra del 4% al 1,33%, se obtuvo mayor rendimiento de betalaínas por gramo de muestra. Al contrario, el tipo de secado no tuvo ningún efecto, es decir el rendimiento de betalaínas fue afectado por el método de secado.

El rendimiento de extracción de betacianinas y betaxantinas estuvo en el rango de 2,17 mg/g a 12,5 mg/g y 2,84 mg/g a 13,02 mg/g respectivamente. El mayor rendimiento de betalaínas obtenido por gramo de remolacha fue de 26,03 mg/g  $\pm$  2,47 y de 25,94 mg/g  $\pm$  1,16 empleando 1,33% de muestra liofilizada y de muestra deshidratada con calor respectivamente. Estos valores estadísticamente no difirieron entre sí ( $p > 0.05$ ) (Figura 1). Es decir, en este tratamiento el tipo de

secado no influyó en el rendimiento, lo que también se evidenció en los demás tratamientos. Por otra parte, la concentración de remolacha si afectó y los tratamientos con mayor concentración presentaron menor rendimiento ( $p < 0.05$ ).



**Figura 1.** Rendimiento de extracción de betalaínas.

Betacianinas (BC), betaxantinas (BX) y betalaínas (BL).

Las medias seguidas de una misma letra minúscula (tipo de secado) y una misma letra mayúscula (concentración de remolacha) no difieren estadísticamente entre sí ( $p > 0,05$ ) por la prueba de Tukey.

Tener rendimientos de extracción altos con bajas concentraciones de remolacha podría deberse a que, la menor cantidad de muestra permite mayor hidratación (Pradal et al., 2016) y provoca que la fase sólida pueda hincharse con mejor recuperación de los pigmentos debido a una mayor superficie de contacto entre la remolacha y el solvente, con mayor fragmentación del tejido

vegetal. También la disminución de la concentración de la muestra puede mejorar la transmisión de la energía ultrasónica (Wen et al., 2018).

Se conoce que la liofilización es un método de secado que tiene la ventaja de preservar mejor los compuestos bioactivos respecto a métodos de secado convencionales como el calor (Kaur & Singh, 2014; Nistor et al., 2017). Sin embargo, en la extracción realizada de betalaínas no influyó el tipo de secado, por lo cual es indiferente la elección entre estos dos métodos.

El contenido de betalaínas extraído en este estudio fue mayor a 6,87mg/g (Righi Pessoa da Silva et.al, 2018) y 6,97 mg/g (Silva et. al, 2020) reportados por investigaciones ejecutadas en condiciones similares, que utilizaron ultrasonido y agua como solvente. Silva et. al (2020) evaluaron el contenido de betalaínas por un método convencional (agitación orbital) y determinaron un rendimiento de 6,02 mg/g. Ganwarige et. al (2021) analizaron el contenido de betalaínas en el subproducto de la remolacha (corteza) bajo las condiciones antes mencionadas y encontraron un contenido de ~3mg/g. La diferencia entre estos estudios podría deberse a la materia prima empleada, ya que el contenido de betalaínas varía en función del genotipo, de la parte de la planta de la que se toma la muestra (Sawicki et al., 2016), del clima, suelo, altitud, exposición a la luz y factores postcosecha como la temperatura y humedad (Akan et al., 2021). En la presente investigación, las condiciones de frecuencia, tiempo y amplitud con las que se realizó la extracción en el ultrasonido fueron apropiadas para la ruptura de las paredes celulares de la matriz sólida, a través del mecanismo de cavitación, que favoreció la transferencia de masa y aumentó la extracción de las betalaínas (Fu et al., 2020; Kulkarni & Rathod, 2014). Además, las condiciones de extracción fueron las adecuadas porque permitieron obtener rendimientos superiores a los descritos.

Tomando en cuenta que las betalaínas son sensibles a temperaturas altas y que el contenido de betalaína y actividad antioxidante del polvo de remolacha depende de la temperatura de secado (Hamid & Mohamed Nour, 2018), el método más adecuado sería mediante liofilización para preservar los compuestos bioactivos y evitar su degradación en el futuro. Respecto a la concentración, la remolacha al 1,333 % es la más apropiada por su alto rendimiento.

## **2. Encapsulación**

Se estudió la encapsulación de las betalaínas previamente extraídas, a través de un diseño experimental que permitió evaluar la eficiencia de encapsulación de cada tratamiento, midiendo la concentración de betalaínas en el sobrenadante.

En el análisis de varianza (ANOVA) se observó que los factores maltodextrina, relación extracto:material de pared y la pectina, así como su interacción influyeron significativamente en la eficiencia de encapsulación. Igualmente, la interacción de maltodextrina y relación extracto:material de pared y la interacción maltodextrina y pectina afectaron significativamente a la variable de respuesta ( $p < 0,05$ ), al contrario de la interacción de la relación extracto:material de pared con la pectina ( $p > 0,05$ ) (Anexo C).

Los efectos de las variables definidas en el experimento de encapsulación (Anexo D) fueron los siguientes: La pectina tuvo una relación inversa con la variable de respuesta, ya que al disminuir la pectina a 0% aumentó la eficiencia de encapsulación. La pectina aumenta la viscosidad de los líquidos y en medios viscosos es complicado que el ultrasonido pueda realizar una dispersión adecuada de las dos fases: extracto y material de pared (Hosseinnia et al., 2017).

Este hallazgo difiere a lo expuesto en el estudio de Ravichandran et al. (2013) que al usar la combinación de maltodextrina 20% y pectina (al 5% respecto a la maltodextrina) en la

encapsulación mediante liofilización tuvo un ligero aumento (3%) en la eficiencia de encapsulación respecto al control (maltodextrina).

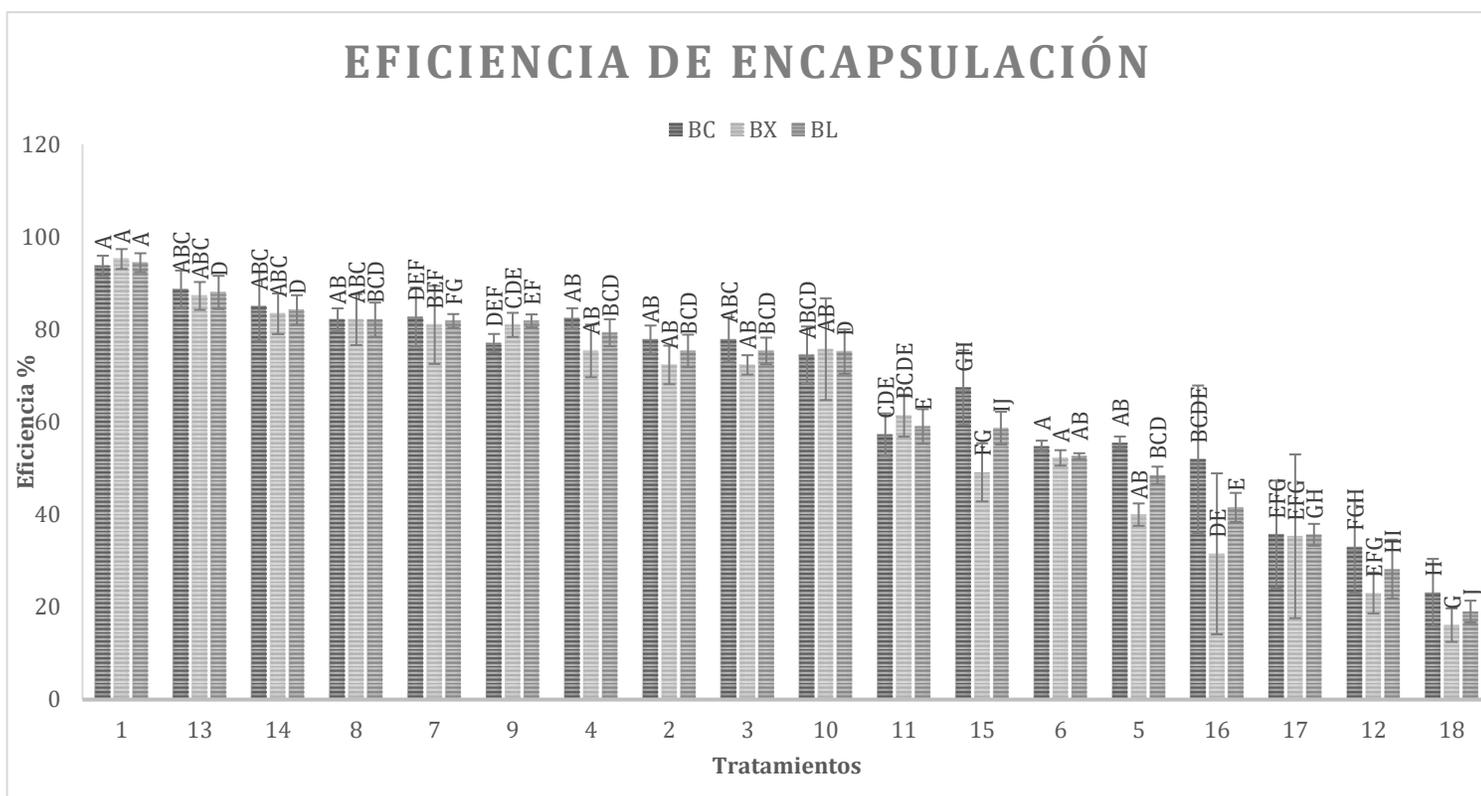
Al usar maltodextrina al 10%, la eficiencia de encapsulación fue mayor respecto a los tratamientos con concentraciones más altas (Anexo D). En estudios de encapsulación por liofilización con diferentes concentraciones de maltodextrina, Li et al. (2022) obtuvo una eficiencia de 80% al usar maltodextrina al 10% (p/v), por otro lado Šturm et al. (2019) cuando empleó maltodextrina al 30% (p/v) registró una eficiencia del 15%. Lo que sugiere que concentraciones más altas no necesariamente generan eficiencias más altas.

Al usar la relación extracto:material de pared en el nivel 1:1 se observó que la variable respuesta aumentaba (Anexo D) lo cual difiere de otros autores. Fredes et al. (2018) y Pieczykolan & Kurck (2019) (Fredes et al., 2018; Pieczykolan & Kurek, 2019) en la microencapsulación con maltodextrina, la relación con más eficiencia fue la 1:4 (núcleo con el material encapsulante) Mohammadhosseini & Shaidi Noghabi (2015) (Mohammadhosseini & Shahidi Noghabi, 2015) al emplearon el mismo material de pared antes mencionado y una relación 1:3 del núcleo respecto al material de pared consiguieron una eficiencia del 88%. Esta discrepancia con el estudio actual podría deberse a que la dispersión del núcleo en el material encapsulante no fue la adecuada. Cuando es mayor la relación entre el material encapsulante y el extracto ocurre un cambio en la reología del medio y aumenta la viscosidad, que influye en el efecto de dispersión que se busca al usar el ultrasonido y la eficiencia de la encapsulación será afectada (Kulkarni & Rathod, 2014).

La interacción entre la maltodextrina y pectina (Anexo D) tiene un efecto negativo en la combinación de todos sus niveles. Hosseinnia et al. (2017) y Pieczykolan & Kurek (2019) (Hosseinnia et al., 2017; Pieczykolan & Kurek, 2019) mencionan que emplear una combinación de maltodextrina y otras gomas como la pectina, aumenta la eficiencia de encapsulación; sin

embargo, en el presente estudio sucedió lo contrario. En procedimientos que sean asistidos por ultrasonido es muy importante controlar la viscosidad del medio por que influye directamente en la transmisión de las ondas de sonido, y la intensidad de la cavitación disminuye con el aumento de la viscosidad del medio (Xu et al., 2014)

En la presente investigación se observó que los diferentes tratamientos exhibieron una eficiencia de encapsulación del 19 al 94%. Este amplio rango se debió a las diversas combinaciones de los factores analizados en el diseño experimental. En la Figura 2 se puede visualizar la eficiencia de cada tratamiento y su comparación con la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ).



**Figura 2.** Eficiencia de encapsulación de los tratamientos aplicados

Las medias seguidas de por lo menos una misma letra (tratamiento) no difieren estadísticamente entre sí, con un nivel de confianza ( $p > 0,05$ ).

La eficiencia de encapsulación más alta tanto para las betacianinas, betaxantinas y betalaínas presentaron los tratamientos 1,2,3,4,7,8,9,10,13,14, con un rango de 75% al 94% y no fueron estadísticamente diferentes ( $p>0,05$ ). En la Tabla 1. (tratamientos) se describe la combinación de las variables en cada tratamiento. En su mayoría los tratamientos con eficiencia mayor a 75% se caracterizaron por no tener pectina en el material de pared excepto los tratamientos 4 y 10 con 5% de pectina respecto a la maltodextrina. Los tratamientos 5,6, 12,16,17 y 18 con eficiencia de encapsulación menor al 60% , tenían pectina en su material de pared, lo cual indica que la ausencia de esta aumenta el porcentaje de encapsulación en la mayoría de los tratamientos.

La eficiencia reportada fue similar a otros trabajos realizados en la encapsulación de betalaínas. Li et al. (2022) determinó una eficiencia de 80% y Saikia et al. (2015) un rango de 77 al 97%, al encapsular antocianinas. En ambos estudios se empleó maltodextrina como material de pared y mediante liofilización asistida por ultrasonido. . Este material es considerado como uno de los mejores ya que aumenta la estabilidad de las betalaínas y le otorga un alto grado de mantenimiento de las propiedades antirradicales (Gandía-Herrero et al., 2010).

Después de analizar los resultados de la encapsulación asistida por ultrasonido se puede decir que, la encapsulación de las betalaínas mediante liofilización es una buena opción para evitar la degradación de estas ya que se emplean temperaturas bajas y, se obtiene una alta eficiencia. Sin embargo, se debe tomar en cuenta que usar maltodextrina en concentraciones mayores al 10% y adicionar pectina cambia la reología del medio en donde se transmiten las ondas del ultrasonido y esto hace que la eficiencia disminuya.

### 3. Estabilidad de las betalaínas encapsuladas

Se evaluó la estabilidad de las betalaínas encapsuladas en yogurt y agua purificada durante 28 días a temperatura de refrigeración 4°C y protegido de la luz. El pH inicial del yogurt con el liofilizado fue de 4,26, mientras que en el agua fue de 4,68.

Para evaluar la estabilidad de las betalaínas se escogieron las betalaínas encapsuladas con los tratamientos 1 y 11 de la sección anterior. El tratamiento 1 (10% maltodextrina, 1:1 extracto: encapsulante, 0% pectina con 94% de eficiencia) se denominó E1 y el tratamiento 11 (15 % maltodextrina, 1:1 extracto: encapsulante, 5% pectina con eficiencia de 57%) se denominó E11. Se eligieron estos tratamientos debido a que en los ensayos de encapsulación la eficiencia de ellos fue diferente estadísticamente ( $p < 0,05$ ). Este análisis permitió conocer el efecto que tienen los dos tipos de encapsulado con diferentes niveles de eficiencia en los alimentos y las distintas combinaciones de material encapsulante. El pH fue monitoreado durante el almacenamiento y se mantuvo en un rango de 4,23 a 4,27 en el agua y de 4,11 a 4,54 en el yogurt.

En el análisis de varianza (ANOVA) (Anexo E) se observó que, en el día 4 el tipo de tratamiento de encapsulación, la matriz alimentaria y su interacción influyeron significativamente en la retención de betalaínas ( $p < 0,05$ ). En el día 14 y 28 únicamente la matriz tuvo significancia en la variable respuesta, por otra parte, la interacción de los factores fue no significativa tanto en el día 14 como en el 28 ( $p > 0,05$ ). Por lo tanto, con el transcurso del tiempo lo que influirá en la retención de las betalaínas encapsuladas, es la matriz alimentaria en la que se encuentre el pigmento.

Por otro lado, los tratamientos de encapsulación (E1 y E11) no tuvieron ningún efecto en la retención de las betalainas (Anexo F). En cambio, al usar yogurt se observó que, la retención de betalainas aumentó con respecto al agua.

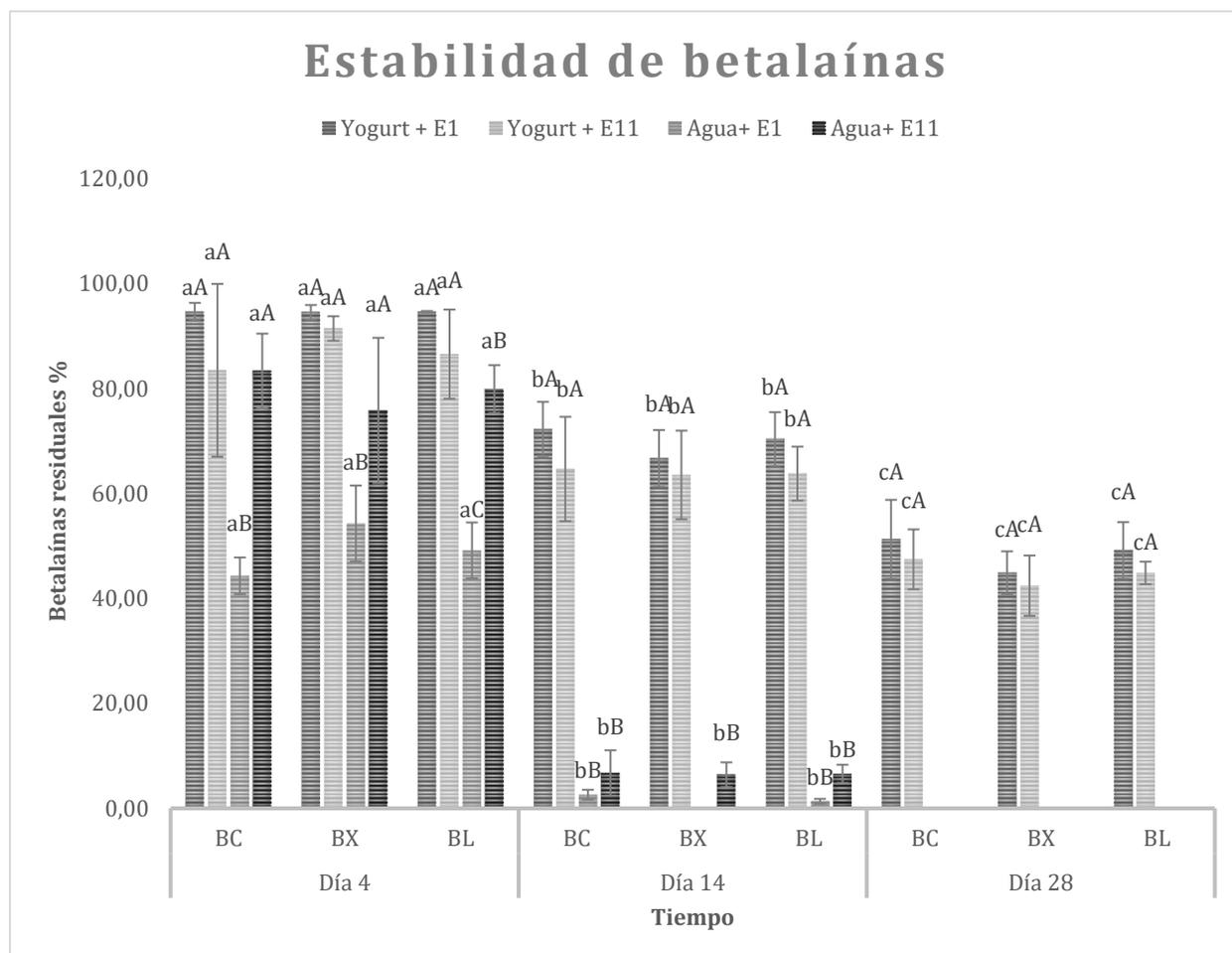
Las matrices en las que se estudió la estabilidad del pigmento fueron completamente diferentes principalmente en la composición y pH. El agua con un pH de 7,1 y el yogurt con pH de 4,35.

El yogurt natural es una bebida fermentada compuesta por grasa 3%, sólidos no grasos de la leche 12% (Chandan, 2017) y varios ácidos orgánicos en su composición principalmente el ácido láctico, acético, propiónico, pirúvico, cítrico, butírico entre otros (Vénica et al., 2014). Según Herbach et al. (2006) y Schneider-Teixeira et al. (2022) la presencia de estos ácidos en el yogurt ejercen un efecto en la estabilidad de las betalainas además de un efecto antioxidante por la remoción del oxígeno.

En el agua la retención de betalainas fue menor, ya que con una actividad de agua alta se desarrollan varias reacciones hidrolíticas y mayor movilidad de los reactivos (Castro-Enríquez et al., 2020; Nistor et al., 2017). Una reacción hidrolítica característica de la degradación de las betalainas es la que se produce por hidrolisis de las betalainas, en donde la betanina produce el ácido betalámico amarillo brillante y la ciclo-Dopa 5-O- $\beta$ -glucósido (incoloro). Esta reacción produce una disminución de la intensidad del color y se produce un considerable cambio de color hacia el amarillo a este factor se le puede atribuir la menor estabilidad del pigmento en un medio acuoso (Herbach et al., 2006).

Hubo diferencias significativas entre los tratamientos y los días de evaluación ( $p < 0,05$ ). En el día 4 el yogurt con los tratamientos E1 y E11 no difirieron estadísticamente ( $p > 0,05$ ), pero en el agua sí ( $p < 0,05$ ). En el día 14 las muestras de yogurt con los liofilizados E1 y E11 no fueron

diferentes estadísticamente, igual que cuando estuvieron en agua, pero ambos si fueron diferentes entre sí y finalmente en el día 28 en el yogurt los tratamientos no fueron diferentes estadísticamente ( $p > 0,05$ ).



**Figura 3.** Estabilidad de las betalaínas encapsuladas durante el almacenamiento

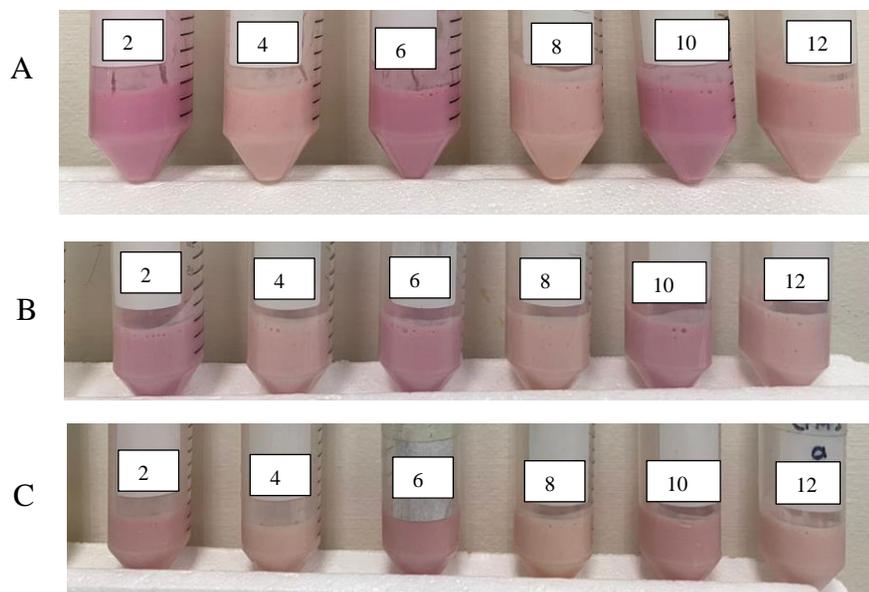
BC: Betacianinas, BX: Betaxantinas, BL: Betalainas.

Tratamiento E1 (10%, Maltodextrina 1:1 extracto: encapsulante, 0% pectina).

Tratamiento E11 (15%, Maltodextrina 1:1 extracto: encapsulante, 5% pectina).

Las medias seguidas de por lo menos una misma letra mayúscula (tratamiento) y una misma letra minúscula (días) no difieren estadísticamente entre sí, con un nivel de confianza del 95% por la prueba de Tukey.

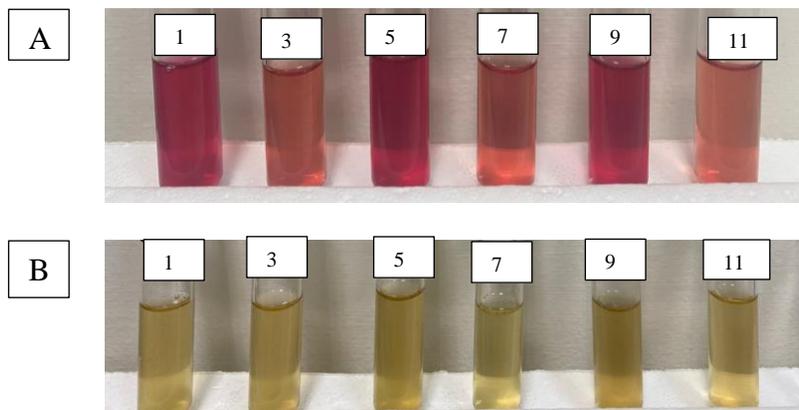
Fueron perceptibles cambios de color durante el tiempo de almacenamiento, como se muestra en las Figura 3 y 4. En el yogurt y en el agua la disminución de la intensidad del color fue evidente; no obstante, esta disminución fue en menor tiempo en el agua, con degradación total entre los 16 y 18 días, en que ocurrió un cambio de rojo-violeta a un tono amarillo, coloración característica de los productos de las reacciones hidrolíticas de las betalaínas (Herbach et al., 2006).



**Figura 4.** Estabilidad de betalaínas en el yogurt durante 28 días **día 0, B. día 14 C. día 28**

Muestras 2,6 y 10. Tratamiento E1 (10% Maltodextrina, 1:1 extracto: encapsulante, 0% pectina).

Muestras 4,8,12. Tratamiento E11 (15% Maltodextrina, 1:1 extracto: encapsulante, 5% pectina).



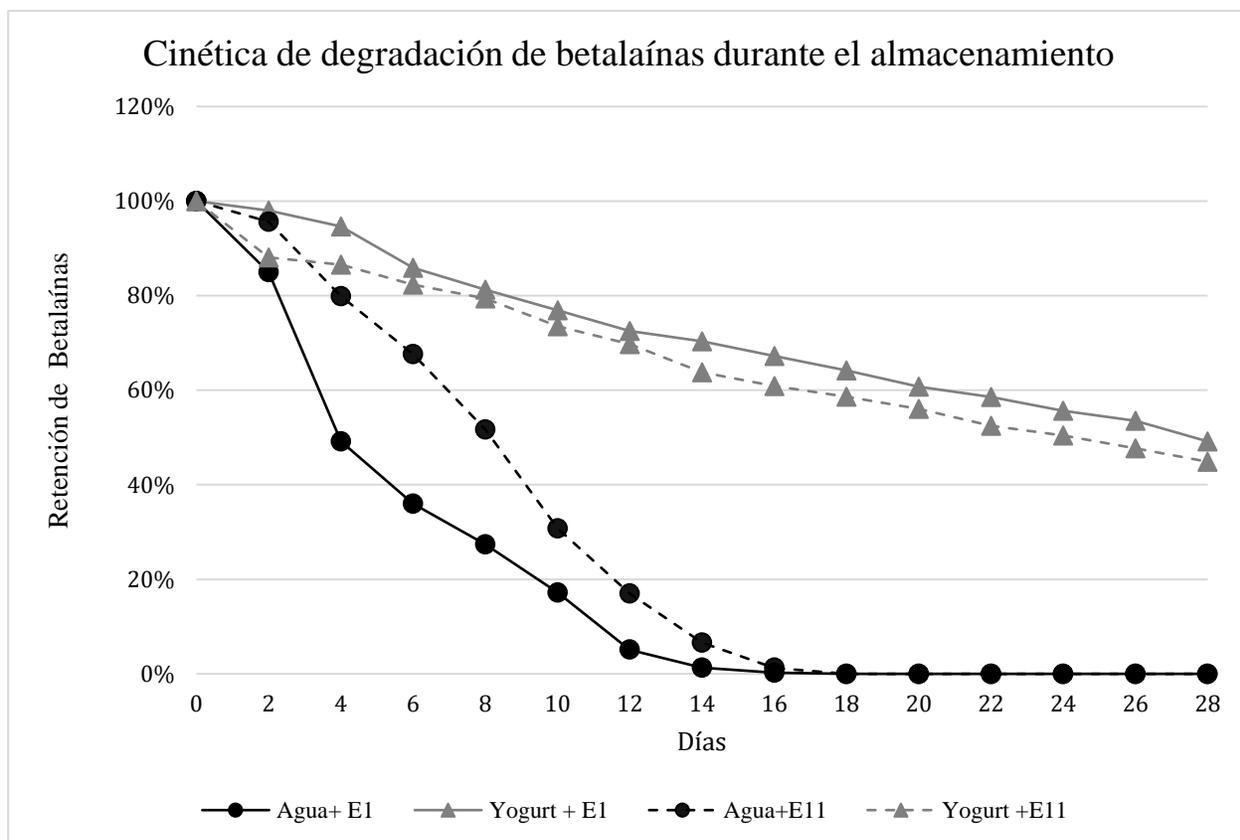
**Figura 5.** Estabilidad de betalainas en el agua durante 18 días

A. día 0, B. día 18

Muestras 1,5,9. Tratamiento E1 (10%, Maltodextrina 1:1 extracto: encapsulante, 0% pectina).

Muestras 3,7,11 Tratamiento E11 (15%, Maltodextrina 1:1 extracto: encapsulante, 5% pectina).

En el agua a los 16 días la retención de las betalainas encapsuladas fue igual a cero en las muestras con E1 y E11. A diferencia del yogurt en el cual hasta el día 28 se obtuvo una concentración residual de 45% y 49% para la muestra con el pigmento encapsulado E1 y E11 respectivamente (Figura 6).



**Figura 6.** Cinética de degradación de las betalaínas

Encapsulado E1 (10%, Maltodextrina 1:1 núcleo: encapsulante, 0% pectina).

Encapsulado E11 (15%, Maltodextrina 1:1 núcleo: encapsulante, 5% pectina).

Vidallon et al.(2015) evaluaron la estabilidad de betalaínas encapsuladas en un modelo de bebida carbonatada (pH 3,6) con retención de color del 82% en un periodo de 21 días. Esta discrepancia con los resultados encontrados en el presente estudio podría deberse al pH del medio en el que se adicionó el pigmento. Se conoce que ciertos ácidos que se emplean en las bebidas como el cítrico y ascórbico pueden mejorar la estabilidad de las betalaínas (Khan, 2016) y la retención en el tiempo.

Así también se ha estudiado la estabilidad de betalaínas sin encapsular, Kayın et al. (2019) analizaron la estabilidad de jugo de remolacha y a los 30 días la concentración final fue del 75%.

Tanto en los estudios mencionados como en esta investigación se registró una reducción en la concentración de las betalaínas; sin embargo, no mencionan una disminución total del pigmento al ser adicionado en el agua como sucedió en este trabajo, y probablemente esta disminución abrupta se deba a la ausencia de sustancias que mejoren la estabilidad de las betalaínas como ácidos orgánicos.

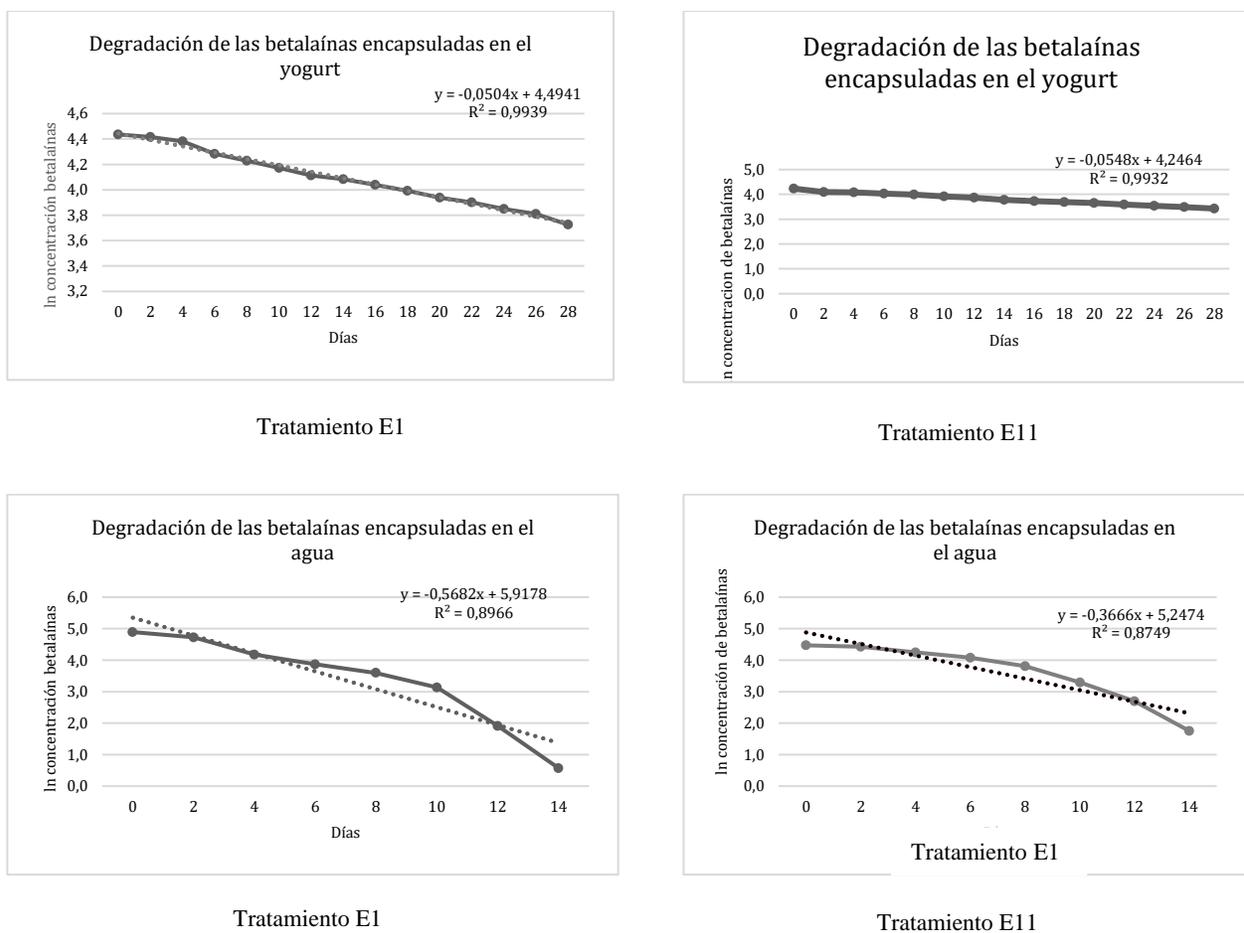
Antigo et al. (2020) analizaron la estabilidad de las betalaínas encapsuladas en yogurt durante 28 días y la concentración disminuyó hasta el 20% de su concentración inicial, siendo esta reducción mayor a la encontrada en este estudio. Schneider-Teixeira et al.(2022) cuando evaluaron la estabilidad del extracto de betalaína presente en la planta medicinal *Alternanthera brasiliana* en yogurt determinaron que, a los 21 días de almacenamiento, tuvo una concentración residual del 20%, que fue menor al reportado en esta investigación. Los resultados de estos estudios son similares a pesar de que se evaluaron betalaínas encapsuladas y sin encapsular, por lo que se podría asumir que, la encapsulación no influye en la retención de las betalaínas en el yogurt. Este efecto también se notó en este estudio.

### **Cinética de degradación de betalaínas**

Los modelos cinéticos empleados en el estudio de vida útil de los alimentos pueden ayudar a controlar y predecir los cambios en los atributos de calidad de los alimentos (Van Boekel, 2008), y se torna imprescindible realizar análisis de este tipo en compuestos que serán añadidos en matrices alimentarias.

De acuerdo con varios autores Silva et al. (2020b); Xu et al. (2014) y Kayın et al.(2019) la degradación de las betalaínas sigue una cinética de primer orden. En las gráficas para reacciones de primer orden (ln concentración versus tiempo), se observó que, en el yogurt y en el agua la degradación de las betalaínas si se ajustaron a este modelo.

En el yogurt el coeficiente de variación fue de  $R^2 = 0,9939$  para betalaínas encapsuladas con el tratamiento E1 (10% maltodextrina, relación 1:1 extracto:material de pared, 0% de pectina), y  $R^2=0,9932$  en el tratamiento E11 (15% maltodextrina, relación 1:1, extracto:material de pared, 5% de pectina). En el agua la degradación del pigmento tuvo un  $R^2 = 0,8816$  y  $R^2 = 0,8305$  para el pigmento con el tratamiento E1 y E11 respectivamente. Estas reacciones cumplieron con la linealidad. En la Figura 7 se puede observar las gráficas de la cinética que siguen las betalaínas encapsuladas.



**Figura 7.** Gráficas de la cinética de degradación de las betalainas

En cada gráfica se presenta la ecuación de la recta y el coeficiente de variación

En la Tabla 2 se presentan los parámetros cinéticos de degradación de las betalainas. En el yogurt la constante de velocidad y el tiempo de vida media de los tratamientos E1 y E11 no tuvieron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ). En el agua ocurrió algo similar, las constantes de velocidad y tiempos de vida media no fueron diferentes estadísticamente entre sí.

**Tabla 2.** Constante de velocidad (K) y tiempo de vida media para betalaínas durante el almacenamiento

Matriz	Tratamiento	Constante de velocidad de la reacción (días <sup>-1</sup> )	Tiempo de vida media (días)
Yogurt	E1	0,03 <sup>a</sup>	27,64± 4,49 <sup>A</sup>
	E11	0,027 <sup>a</sup>	24,253 ± 1,452 <sup>A</sup>
Agua	E1	0,31 <sup>b</sup>	2,23± 0,196 <sup>B</sup>
	E11	0,20 <sup>b</sup>	3,55± 0,357 <sup>B</sup>

Las medias seguidas de por lo menos una misma letra minúscula (constante de velocidad) y una misma letra mayúscula (tiempo de vida media) no difieren estadísticamente entre sí, con un nivel de confianza del 95% por la prueba de Tukey.

En la determinación de los parámetros cinéticos se evidenció que la constante de velocidad de reacción del agua fue más alta que la del yogurt, lo que explica una mayor degradación de betalaínas en el agua. Y para el tiempo de vida media, este fue mayor en el yogurt que en el agua, cumpliéndose así la relación inversamente proporcional entre la velocidad de reacción con el tiempo de vida media.

Antigo et al. (2017) evaluaron la vida media de las betalaínas de la remolacha encapsuladas con maltodextrina y goma xanthan por liofilización en pH 4 y a 30 °C y la vida media fue de 7,5 días. Posteriormente, el mismo grupo, evaluó la cinética de degradación de las betalaínas a 4 °C

en el yogurt, con maltodextrina como encapsulante y se obtuvo una vida media de 4,47 días Antigo et al. (2020).

En las dos investigaciones señaladas anteriormente, la vida media determinada fue menor a la reportada en el presente estudio en el que, la extracción y encapsulación fueron asistidos por ultrasonido, que mejoró la dispersión del extracto en el material encapsulante (Wen et al., 2018) y aumentó su estabilidad.

En el estudio de estabilidad de betalaínas encapsuladas en el yogurt realizado por Antigo et al. (2020) se encontró una constante de degradación  $K=0,154/\text{días}$ , superior al obtenido en esta investigación de  $0,03/\text{días}$ . La constante de velocidad de la reacción proporciona así una medida de reactividad y la estabilidad de un sistema determinado (Heldman & Lund, 2007).

Durante los 28 días de duración del análisis, la concentración de betacianinas, betaxantinas y betalaínas disminuyó, pero esta disminución en el tiempo dependió de la matriz en la que se aplicó, ya que la degradación en el agua fue mayor que en el yogurt. Hasta el día 28 del análisis de estabilidad, el color del yogurt se mantuvo con menor intensidad que al inicio, pero aún conservaba la tonalidad rosada característica de estos pigmentos.

## CONCLUSIONES

La extracción de betalaínas asistida por ultrasonido fue un método efectivo que permitió un alto rendimiento de extracción (26,03 mg/g) empleando una menor concentración de remolacha. Las betalaínas encapsuladas tuvieron una eficiencia de encapsulación buena (75% al 94%), excepto los tratamientos que tenían pectina como parte del material encapsulante. Las betalaínas encapsuladas fueron más estables en el yogurt, al cabo de 28 días se retuvo el 45% de su concentración inicial, en el agua la degradación fue total en el día 16. Por lo que la estabilidad de este pigmento depende de la matriz en la que sea aplicado.

El estudio cinético de degradación determinó que se ajusta a una reacción de primer orden, además con la determinación de la constante de velocidad se comprobó que la velocidad de degradación en el agua fue mayor que en el yogurt. Por último, el tiempo de vida media en el agua fue de 2,2 a 3,3 días y en el yogurt de 24 a 27 días, lo que permitirá estimar la vida útil de las betalaínas en el agua y yogurt.

La encapsulación de betalaínas mediante liofilización y con maltodextrina como material encapsulante es una excelente opción para sustituir colorantes sintéticos, ya que además de aportar color contribuyen al desarrollo de alimentos funcionales.

## REFERENCIAS

- Akan, S., Tuna Gunes, N., & Erkan, M. (2021). Red beetroot: Health benefits, production techniques, and quality maintaining for food industry. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(10), e15781. <https://doi.org/10.1111/JFPP.15781>
- Antigo, J. L. D., Bergamasco, R. de C., & Madrona, G. S. (2017). Effect of ph on the stability of red beet extract. Microcapsules produced by spray drying or freeze drying. *Food Science and Technology*, 38(1), 72–77. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.34316>
- Antigo, J. L. D., Silva, J. M. da, Bergamasco, R. de C., & Madrona, G. S. (2020a). Microencapsulation of beet dye (*Beta vulgaris* L.) using maltodextrin and xanthan gum as encapsulant agents and application in yogurt. *Research, Society and Development*, 9(12), e14091210896. <https://doi.org/10.33448/RSD-V9I12.10896>
- Antigo, J. L. D., Silva, J. M. da, Bergamasco, R. de C., & Madrona, G. S. (2020b). Microencapsulation of beet dye (*Beta vulgaris* L.) using maltodextrin and xanthan gum as encapsulant agents and application in yogurt. *Research, Society and Development*, 9(12), e14091210896–e14091210896. <https://doi.org/10.33448/RSD-V9I12.10896>
- Borkowski, T., Szymusiak, H., Gliszczynska-Świgło, A., Rietjens, I. M. C. M., & Tyrakowska, B. (2005). Radical Scavenging Capacity of Wine Anthocyanins Is Strongly pH-Dependent. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(14), 5526–5534. <https://doi.org/10.1021/JF0478556>
- Castro-Enríquez, D. D., Montaña-Leyva, B., Del Toro-Sánchez, C. L., Juárez-Onofre, J. E., Carvajal-Millan, E., Burruel-Ibarra, S. E., Tapia-Hernández, J. A., Barreras-Urbina, C. G., & Rodríguez-Félix, F. (2020). Stabilization of betalains by encapsulation—a review. *Journal of*

- Food Science and Technology*, 57(5), 1587–1600. <https://doi.org/10.1007/S13197-019-04120-X>
- Chandan, R. C. (2017). An Overview of Yogurt Production and Composition. *Yogurt in Health and Disease Prevention*, 31–47. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805134-4.00002-X>
- Cui, H., Siva, S., & Lin, L. (2019). Ultrasound processed cuminaldehyde/2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex: Preparation, characterization and antibacterial activity. *Ultrasonics Sonochemistry*, 56, 84–93. <https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2019.04.001>
- Desai, K. G. H., & Park, H. J. (2005). Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying Technology*, 23(7), 1361–1394. <https://doi.org/10.1081/DRT-200063478>
- Dong, Z., Ma, Y., Hayat, K., Jia, C., Xia, S., & Zhang, X. (2011). Morphology and release profile of microcapsules encapsulating peppermint oil by complex coacervation. *Journal of Food Engineering*, 104(3), 455–460. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2011.01.011>
- Esatbeyoglu, T., Wagner, A. E., Schini-Kerth, V. B., & Rimbach, G. (2015). Betanin—A food colorant with biological activity. *Molecular Nutrition & Food Research*, 59(1), 36–47. <https://doi.org/10.1002/MNFR.201400484>
- Ezhilarasi, P. N., Indrani, D., Jena, B. S., & Anandharamakrishnan, C. (2013). Freeze drying technique for microencapsulation of Garcinia fruit extract and its effect on bread quality. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 513–520. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2013.01.009>
- Fernández-López, J. A., Roca, M. J., Angosto, J. M., & Obón, J. M. (2018). Betaxanthin-Rich Extract from Cactus Pear Fruits as Yellow Water-Soluble Colorant with Potential Application in Foods. *Plant Foods for Human Nutrition*, 73(2), 146–153. <https://doi.org/10.1007/S11130-018-0664-3/TABLES/4>

- Fogler, S. (1999). *Elements of Chemical Reaction Engineering* (tercera). [https://imtk.ui.ac.id/wp-content/uploads/2014/02/Elements\\_of\\_Chemical\\_Reaction\\_Engineering\\_\\_3rd\\_Edition\\_.pdf](https://imtk.ui.ac.id/wp-content/uploads/2014/02/Elements_of_Chemical_Reaction_Engineering__3rd_Edition_.pdf)
- Fredes, C., Osorio, M. J., Parada, J., & Robert, P. (2018). Stability and bioaccessibility of anthocyanins from maqui (*Aristotelia chilensis* [Mol.] Stuntz) juice microparticles. *LWT*, *91*, 549–556. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2018.01.090>
- Fu, Y., Shi, J., Xie, S. Y., Zhang, T. Y., Soladoye, O. P., & Aluko, R. E. (2020). Red Beetroot Betalains: Perspectives on Extraction, Processing, and Potential Health Benefits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *68*(42), 11595–11611. [https://doi.org/10.1021/ACS.JAFC.0C04241/ASSET/IMAGES/MEDIUM/JF0C04241\\_0004.GIF](https://doi.org/10.1021/ACS.JAFC.0C04241/ASSET/IMAGES/MEDIUM/JF0C04241_0004.GIF)
- Gandía-Herrero, F., Jiménez-Atiénzar, M., Cabanes, J., García-Carmona, F., & Escribano, J. (2010). Stabilization of the Bioactive Pigment of Opuntia Fruits through Maltodextrin Encapsulation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *58*(19), 10646–10652. <https://doi.org/10.1021/JF101695F>
- Ganwarige, F. S. N., Wood, K., Papaioannou, E. H., Marshall, L. J., Sergeeva, N. N., & Boesch, C. (2021). Application of an Ultrasound-Assisted Extraction Method to Recover Betalains and Polyphenols from Red Beetroot Waste. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, *9*(26), 8736–8747. [https://doi.org/10.1021/ACSSUSCHEMENG.1C01203/SUPPL\\_FILE/SC1C01203\\_SI\\_001.PDF](https://doi.org/10.1021/ACSSUSCHEMENG.1C01203/SUPPL_FILE/SC1C01203_SI_001.PDF)
- Gengatharan, A., Dykes, G. A., & Choo, W. S. (2015). Betalains: Natural plant pigments with potential application in functional foods. *LWT - Food Science and Technology*, *64*(2), 645–649. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2015.06.052>

- Hamid, M. G., & Mohamed Nour, A. A. A. (2018). Effect of different drying methods on quality attributes of beetroot (*Beta vulgaris*) slices. *World Journal of Science, Technology and Sustainable Development*, *15*(3), 287–298. <https://doi.org/10.1108/WJSTSD-11-2017-0043>
- Hasani, M., Rad, A. H. E., Hosseini, M. M., & Noghabi, M. S. (2015). Physicochemical characteristic of microencapsulated fish oil by freeze-drying using different combinations of wall materials. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, *12*, 45–51. <https://doi.org/10.13005/BBRA/2171>
- Heldman, D., & Lund, D. (2007). Reaction Kinetics in Food Systems. In *Food engineering* (2nd ed., pp. 128–130). <https://deymerg.files.wordpress.com/2013/07/handbook-of-food-engineering.pdf>
- Herbach, K. M., Stintzing, F. C., & Carle, R. (2006). Betalain stability and degradation - Structural and chromatic aspects. *Journal of Food Science*, *71*(4). <https://doi.org/10.1111/J.1750-3841.2006.00022.X>
- Hosseinnia, M., Khaledabad, M. A., & Almasi, H. (2017). Optimization of *Ziziphora clinopodioides* essential oil microencapsulation by whey protein isolate and pectin: A comparative study. *International Journal of Biological Macromolecules*, *101*, 958–966. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2017.03.190>
- Jouki, M., Khazaei, N., Rashidi-Alavijeh, S., & Ahmadi, S. (2021). Encapsulation of *Lactobacillus casei* in quince seed gum-alginate beads to produce a functional synbiotic drink powder by agro-industrial by-products and freeze-drying. *Food Hydrocolloids*, *120*, 106895. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2021.106895>
- Jurić, S., Jurić, M., Król-Kilińska, Ż., Vlahoviček-Kahlina, K., Vinceković, M., Dragović-Uzelac, V., & Donsì, F. (2020). Sources, stability, encapsulation and application of natural pigments

- in foods. *Food Reviews International*. <https://doi.org/10.1080/87559129.2020.1837862>
- Kaur, K., & Singh, A. K. (2014). *African Journal of Agricultural Research Drying kinetics and quality characteristics of beetroot slices under hot air followed by microwave finish drying*. 9(12), 1036–1044. <https://doi.org/10.5897/AJAR2013>
- Kayın, N., Atalay, D., Akçay, T., Şaba T. R., Hande, & Erge, S. (2019). Color stability and change in bioactive compounds of red beet juice concentrate stored at different temperatures. *Journal of Food Science and Technology*, 56. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03982-5>
- Khan, M. I. (2016). Stabilization of betalains: A review. *Food Chemistry*, 197, 1280–1285. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2015.11.043>
- Kulkarni, V. M., & Rathod, V. K. (2014). Mapping of an ultrasonic bath for ultrasound assisted extraction of mangiferin from *Mangifera indica* leaves. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(2), 606–611. <https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2013.08.021>
- Li, X., Zhang, Z. H., Qiao, J., Qu, W., Wang, M. S., Gao, X., Zhang, C., Brennan, C. S., & Qi, X. (2022). Improvement of betalains stability extracted from red dragon fruit peel by ultrasound-assisted microencapsulation with maltodextrin. *Ultrasonics Sonochemistry*, 82, 105897. <https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2021.105897>
- Mohammadhosseini, M., & Shahidi Noghabi, M. (2015). Physicochemical characteristic of microencapsulated fish oil by freeze-drying using different combinations of wall materials. *Article in Biosciences Biotechnology Research Asia*. <https://doi.org/10.13005/bbra/2007>
- 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. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2017.04.129>

- Pieczykolan, E., & Kurek, M. A. (2019). Use of guar gum, gum arabic, pectin, beta-glucan and inulin for microencapsulation of anthocyanins from chokeberry. *International Journal of Biological Macromolecules*, 129, 665–671. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2019.02.073>
- Porto, A., Costa, D., Stahl Hermes, V., De, A., Rios, O., Simone, •, & Flôres, H. (2017). Minimally processed beetroot waste as an alternative source to obtain functional ingredients. *Journal of Food Science and Technology*, 54. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2642-4>
- Pradal, D., Vauchel, P., Decossin, S., Dhulster, P., & Dimitrov, K. (2016). Kinetics of ultrasound-assisted extraction of antioxidant polyphenols from food by-products: Extraction and energy consumption optimization. *Ultrasonics Sonochemistry*, 32, 137–146. <https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2016.03.001>
- Ravichandran, K., Palaniraj, R., Min Min Thaw Saw, N., M Gabr, A. M., Ahmed, A. R., & Knorr, D. (2014). Effects of different encapsulation agents and drying process on stability of betalains extract. *Journal of Food Science and Technology Volume*, 51, 2216–2221. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0728-6>
- Ravichandran, K., Saw, N. M. M. T., Mohdaly, A. A. A., Gabr, A. M. M., Kastell, A., Riedel, H., Cai, Z., Knorr, D., & Smetanska, I. (2013). Impact of processing of red beet on betalain content and antioxidant activity. *Food Research International*, 50(2), 670–675. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2011.07.002>
- Righi Pessoa da Silva, H., da Silva, C., & Bolanho, B. C. (2018). Ultrasonic-assisted extraction of betalains from red beet (*Beta vulgaris* L.). *Journal of Food Process Engineering*, 41(6), e12833. <https://doi.org/10.1111/JFPE.12833>
- Saikia, S., Mahnot, N. K., & Mahanta, C. L. (2015). Optimisation of phenolic extraction from

- Averrhoa carambola pomace by response surface methodology and its microencapsulation by spray and freeze drying. *Food Chemistry*, *171*, 144–152. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2014.08.064>
- Sawicki, T., Bączek, N., & Wiczowski, W. (2016). Betalain profile, content and antioxidant capacity of red beetroot dependent on the genotype and root part. *Journal of Functional Foods*, *27*, 249–261. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2016.09.004>
- Schneider-Teixeira, A., Molina-García, A. D., Alvarez, I., Dello Staffolo, M., & Deladino, L. (2022). Application of betacyanins pigments from *Alternanthera brasiliana* as yogurt colorant. *Lwt*, *159*, 113237. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113237>
- Silva, J. P. P., Bolanho, B. C., Stevanato, N., Massa, T. B., & da Silva, C. (2020a). Ultrasound-assisted extraction of red beet pigments (*Beta vulgaris* L.): Influence of operational parameters and kinetic modeling. *Journal of Food Processing and Preservation*, *44*(10), e14762. <https://doi.org/10.1111/JFPP.14762>
- Silva, J. P. P., Bolanho, B. C., Stevanato, N., Massa, T. B., & da Silva, C. (2020b). Ultrasound-assisted extraction of red beet pigments (*Beta vulgaris* L.): Influence of operational parameters and kinetic modeling. *Journal of Food Processing and Preservation*, *44*(10), e14762. <https://doi.org/10.1111/JFPP.14762>
- Šturm, L., Osojnik Črnivec, I. G., Istenič, K., Ota, A., Megušar, P., Slukan, A., Humar, M., Levic, S., Nedović, V., Kopinč, R., Deželak, M., Pereyra Gonzales, A., & Poklar Ulrih, N. (2019). Encapsulation of non-dewaxed propolis by freeze-drying and spray-drying using gum Arabic, maltodextrin and inulin as coating materials. *Food and Bioproducts Processing*, *116*, 196–211. <https://doi.org/10.1016/J.FBP.2019.05.008>
- Tiwari, B. K. (2015). Ultrasound: A clean, green extraction technology. *TrAC Trends in Analytical*

- Chemistry*, 71, 100–109. <https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2015.04.013>
- Van Boekel, M. A. J. S. (2008). Kinetic modeling of food quality: A critical review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 7(1), 144–158. <https://doi.org/10.1111/J.1541-4337.2007.00036.X>
- Vénica, C. I., Perotti, M. C., & Bergamini, C. V. (2014). Organic acids profiles in lactose-hydrolyzed yogurt with different matrix composition. *Dairy Science and Technology*, 94(6), 561–580. <https://doi.org/10.1007/S13594-014-0180-7>
- Vidallon, L., Rodriguez, E. B., Mendoza, D., Kevin, D., & Reyes, C. T. (2015). Stabilization of Betalains from the Peel of Red Dragon Fruit [*Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose] through Biopolymeric Encapsulation. *Philippine Agricultural Scientist*. <https://www.researchgate.net/publication/303753808>
- Vulić, J., Čanadanović-Brunet, J., Četković, G., Tumbas, V., Djilas, S., Četojević-Simin, D., & Čanadanović, V. (2012). Antioxidant and cell growth activities of beet root pomace extracts. *Journal of Functional Foods*, 4(3), 670–678. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2012.04.008>
- Wen, C., Zhang, J., Zhang, H., Dzah, C. S., Zandile, M., Duan, Y., Ma, H., & Luo, X. (2018). Advances in ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from cash crops – A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 48, 538–549. <https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2018.07.018>
- Xu, Y., Zhang, L., Bailina, Y., Ge, Z., Ding, T., Ye, X., & Liu, D. (2014). Effects of ultrasound and/or heating on the extraction of pectin from grapefruit peel. *Journal of Food Engineering*, 126, 72–81. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2013.11.004>

**INDICE DE ANEXOS**

<b>Anexo A: Análisis de varianza (ANOVA) del rendimiento de extracción de betalaínas de los tratamientos.....</b>	<b>52</b>
<b>Anexo B: Gráfico de efectos principales e interacción de las variables del diseño factorial de extracción de betalaínas. ....</b>	<b>53</b>
<b>Anexo C: Análisis de varianza (ANOVA) de la eficiencia de encapsulación de betalaínas de los tratamientos .....</b>	<b>54</b>
<b>Anexo D: Gráfico de efectos principales e interacción de las variables del diseño factorial de eficiencia de encapsulación de betalaínas. ....</b>	<b>55</b>
<b>.....</b>	<b>55</b>
<b>Anexo E: Análisis de varianza (ANOVA) de la retención de betalaínas en alimentos durante 28 días de almacenamiento. ....</b>	<b>56</b>
<b>Anexo F: Gráfico de efectos principales e interacción de las variables del diseño factorial de estabilidad de betalaínas encapsuladas en las matrices alimentarias. ....</b>	<b>58</b>
<b>Anexo G: Gráficos de la estabilidad en el tiempo de betacianinas y betaxantinas durante el almacenamiento.....</b>	<b>61</b>

## ANEXOS

**Anexo A:** Análisis de varianza (ANOVA) del rendimiento de extracción de betalaínas de los tratamientos

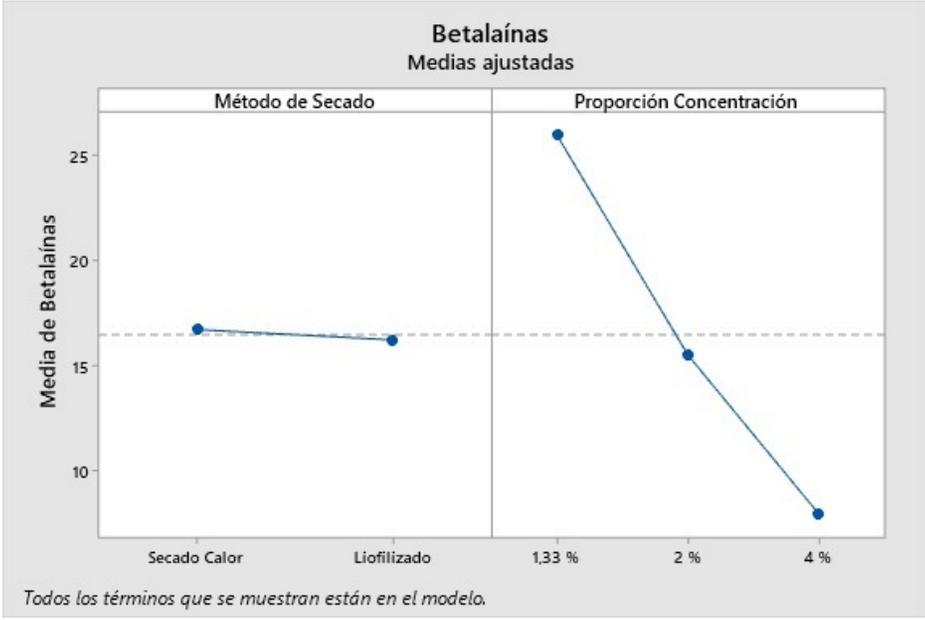
<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC Ajust.</b>	<b>MC Ajust.</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor p</b>
Modelo	5	994,30	198,861	81,60	0,000
Lineal	3	990,78	330,261	135,52	0,000
Método de secado	1	1,10	1,097	0,45	0,515 n.s.
Concentración de remolacha	2	989,69	494,844	203,05	0,000*
M. secado*	2	3,52	1,760	0,72	0,506 n.s.
Error	12	29,24	2,437		
Total	17	1023,55			

\* Significativo al 5 % de probabilidad

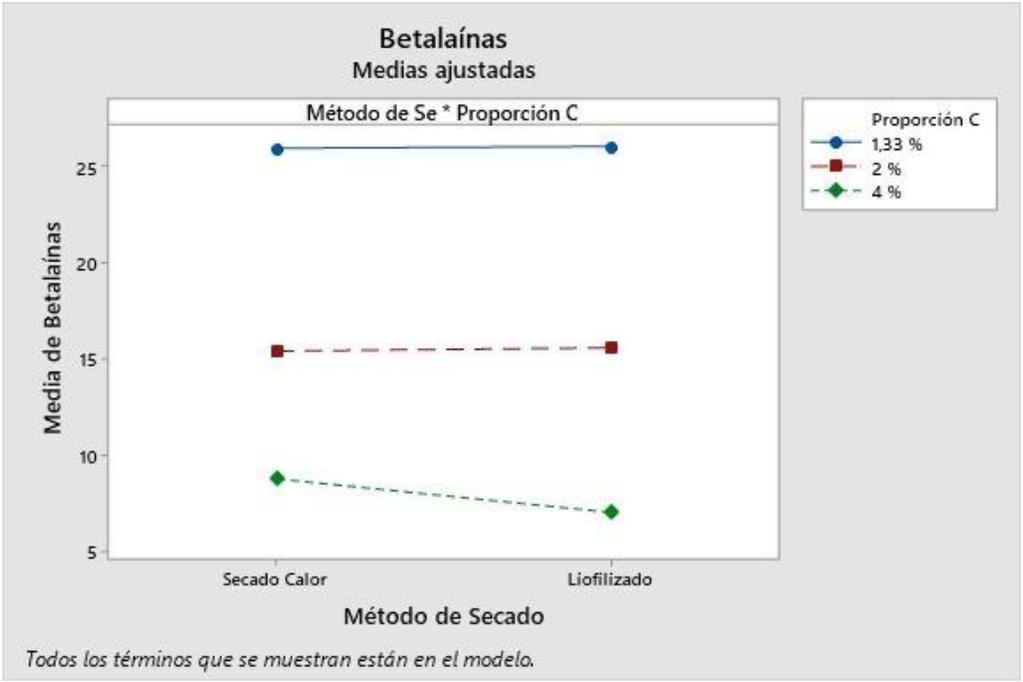
n.s. No significativo al 5% de probabilidad

**Anexo B:** Gráfico de efectos principales e interacción de las variables del diseño factorial de extracción de betalaínas.

Efectos principales



Interacción



**Anexo C:** Análisis de varianza (ANOVA) de la eficiencia de encapsulación de betalaínas de los tratamientos

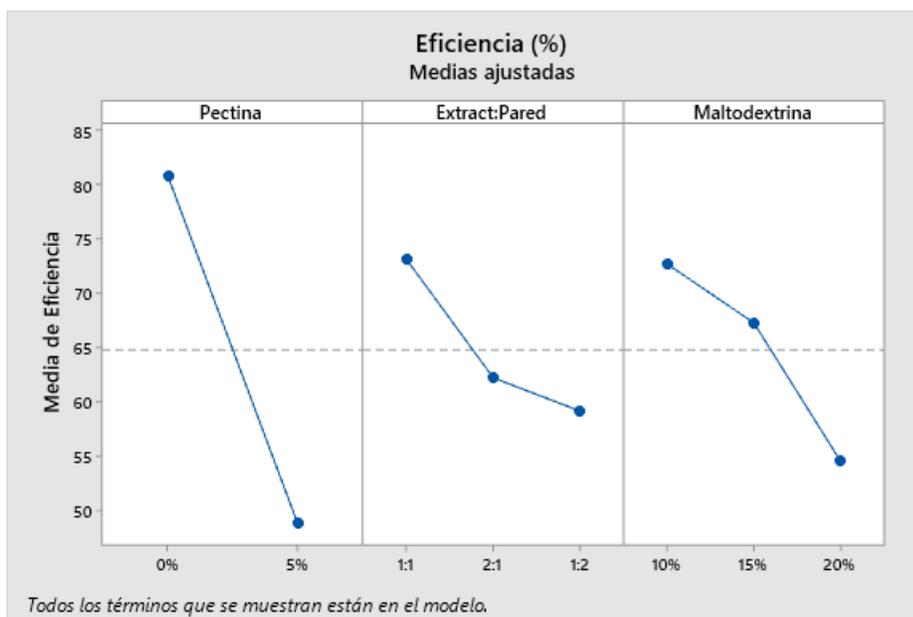
<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC Ajust.</b>	<b>MC Ajust.</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor p</b>
Modelo	17	22412,9	1318,4	28,58	0,000
Lineal	5	15690,7	3138,1	68,02	0,000
Maltodextrina	2	2378,3	1189,2	25,77	0,000*
Relación Extracto:M. encapsulante	2	1056,1	528,1	11,45	0,000*
Pectina	1	12256,3	12256,3	265,64	0,000*
Maltodextrina* Extracto:M. encapsulante	4	3955,9	989,0	21,44	0,000*
Maltodextrina*pectina	2	1235,7	617,9	13,39	0,000*
Relación Extracto:M. encapsulante *pectina	2	69,9	35,0	0,76	0,476 <sup>n.s.</sup>
Maltodextrina* Relación Extracto:M. encapsulante *pectina	4	1460,5	365,1	7,91	0,000*
Error	36	1661,0	46,1		
Total	53	24073,8			

\* Significativo al 5 % de probabilidad

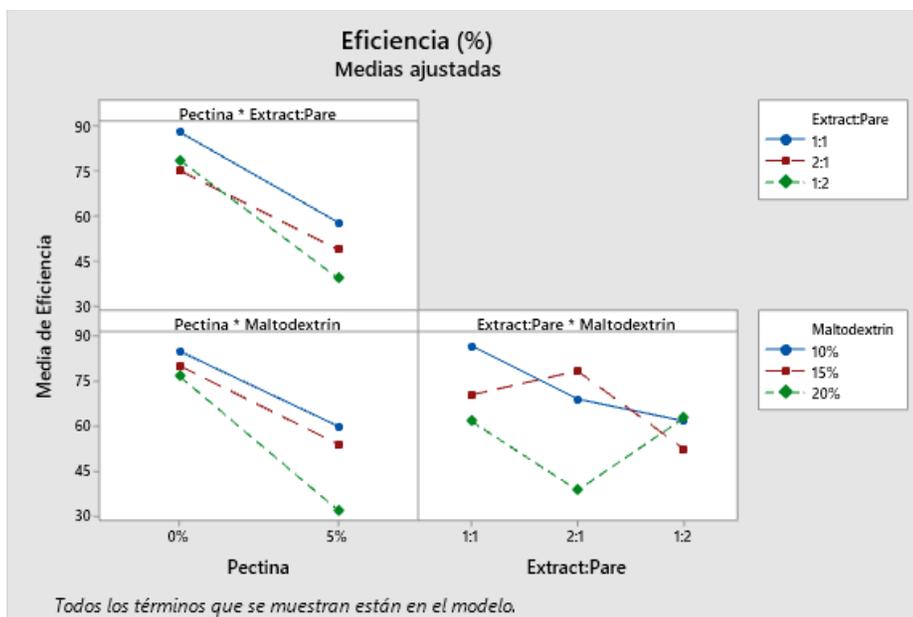
n.s. No significativo al 5% de probabilidad

**Anexo D:** Gráfico de efectos principales e interacción de las variables del diseño factorial de eficiencia de encapsulación de betalainas.

### Efectos principales



### Interacciones



**Anexo E:** Análisis de varianza (ANOVA) de la retención de betalaínas en alimentos durante 28 días de almacenamiento.

**Día 4**

<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC Ajust.</b>	<b>MC Ajust.</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor p</b>
Modelo	3	0,35509	0,118363	38,92	0,000
Lineal	2	0,24230	0,121150	39,84	0,000
Tratamiento de encapsulación	1	0,03856	0,038561	12,68	0,007*
Matriz alimentaria	1	0,20374	0,203738	67,00	0,000*
Tto de encapsulación*matriz alimentaria	1	0,11279	0,112791	37,09	0,000*
Error	8	0,02433	0,003041		
Total	11	0,37942			

\* Significativo al 5 % de probabilidad

n.s. No significativo al 5% de probabilidad

**Día 14**

<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC Ajust.</b>	<b>MC Ajust.</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor p</b>
Modelo	3	1,20638	0,40213	285,95	0,000
Lineal	2	1,19593	0,59796	425,21	0,000
Tratamiento de encapsulación	1	0,00013	0,00013	0,09	0,766 <sup>n.s.</sup>
Matriz alimentaria	1	1,19580	1,19580	850,32	0,000*
Tto de encapsulación*matriz alimentaria	1	0,01045	0,01045	7,43	0,026*
Error	8	0,01125	0,00141		
Total	11	1,21763			

\* Significativo al 5 % de probabilidad

n.s. No significativo al 5% de probabilidad

**Día 28**

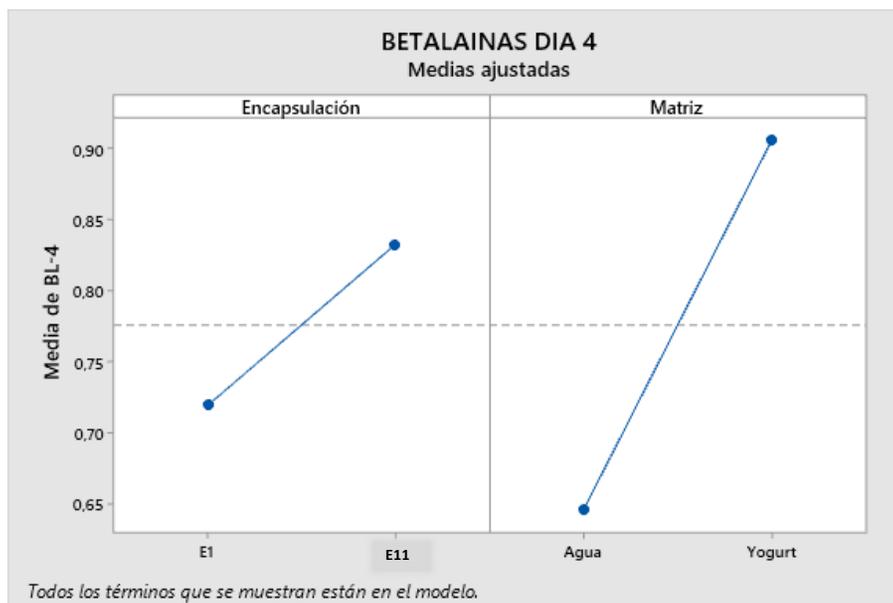
<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC Ajust.</b>	<b>MC Ajust.</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor p</b>
Modelo	3	0,665977	0,221992	263,50	0,000
Lineal	2	0,664595	0,332298	394,42	0,000
Tratamiento de encapsulación	1	0,001382	0,001382	1,64	0,236 n.s.
Matriz alimentaria	1	0,663213	0,663213	787,20	0,000 *
Tto de encapsulación*matriz alimentaria	1	0,001382	0,001382	1,64	0,236 n.s.
Error	8	0,006740	0,000842		
Total	11	0,672717			

\* Significativo al 5 % de probabilidad

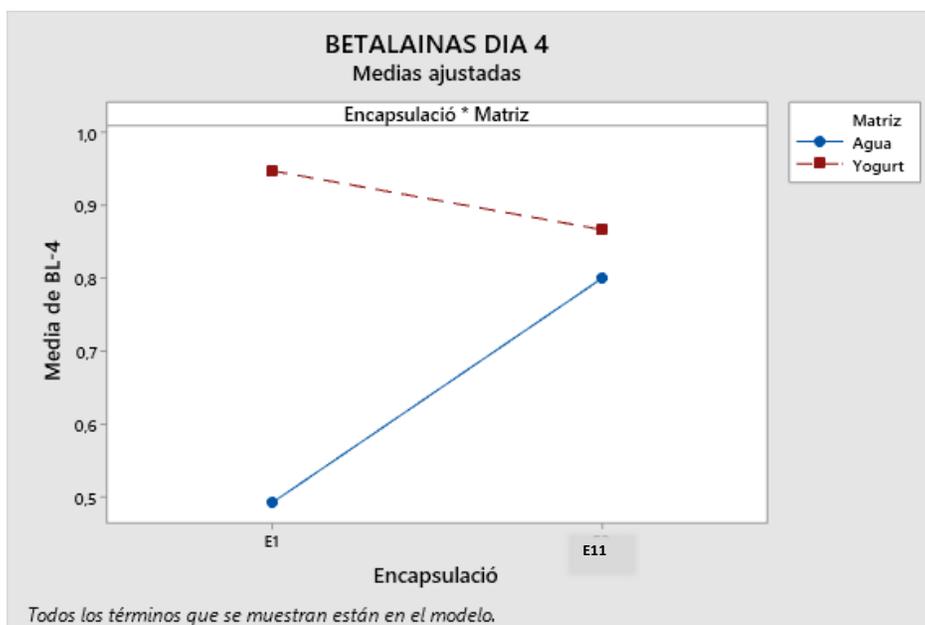
n.s. No significativo al 5% de probabilidad

**Anexo F:** Gráfico de efectos principales e interacción de las variables del diseño factorial de estabilidad de betalaínas encapsuladas en las matrices alimentarias.

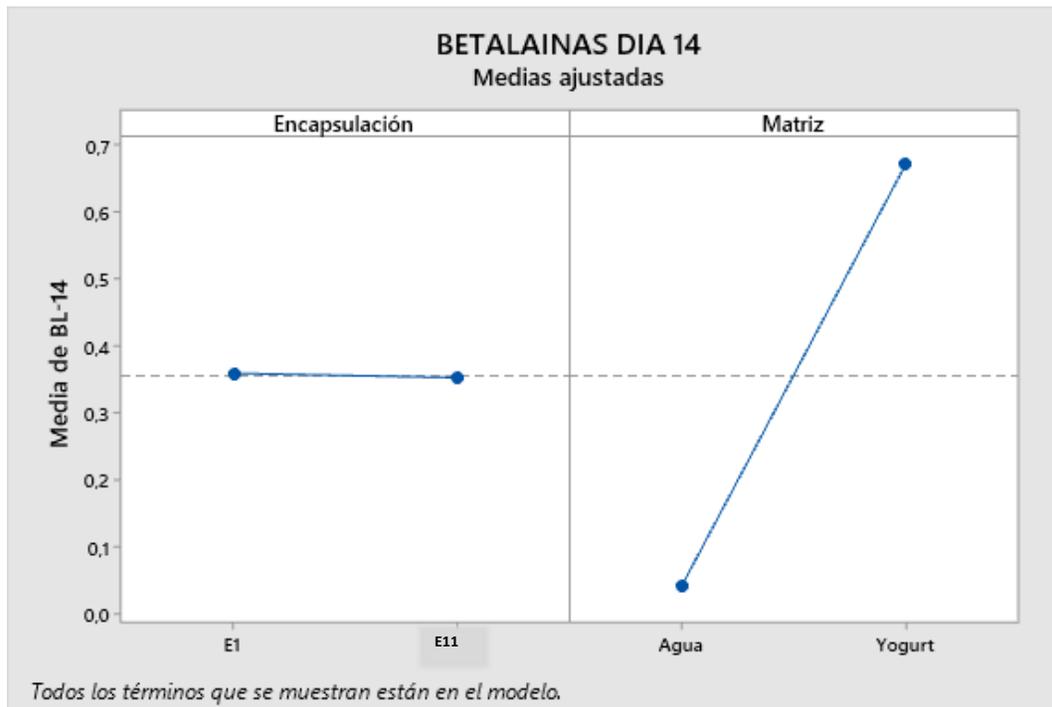
- Efectos principales día 4



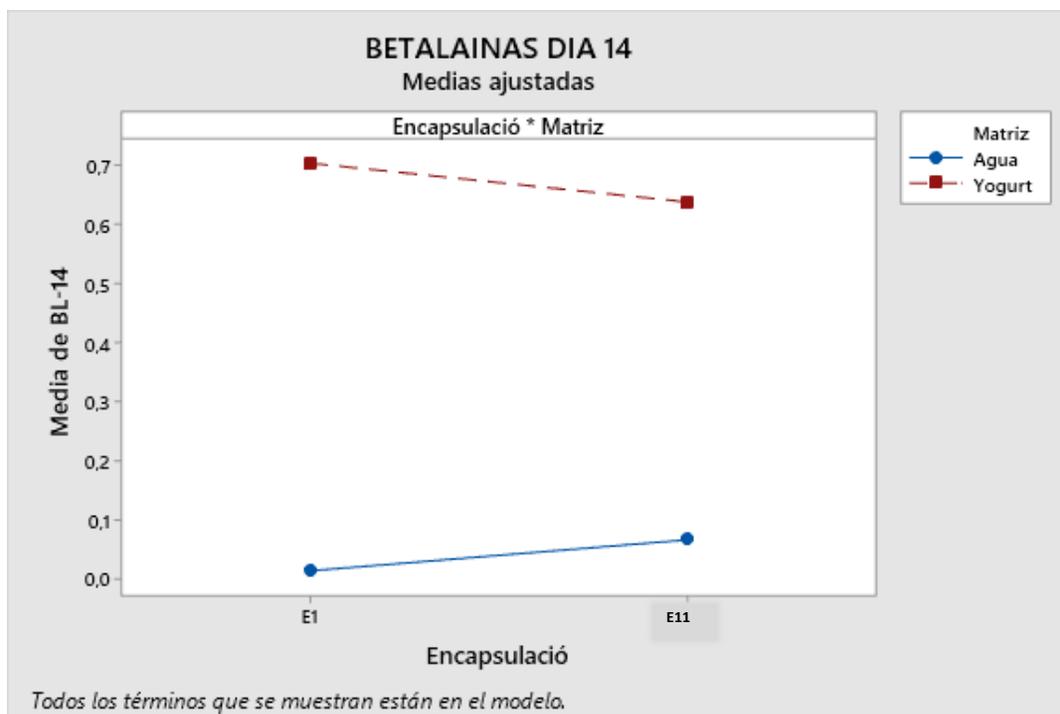
- Interacciones día 4



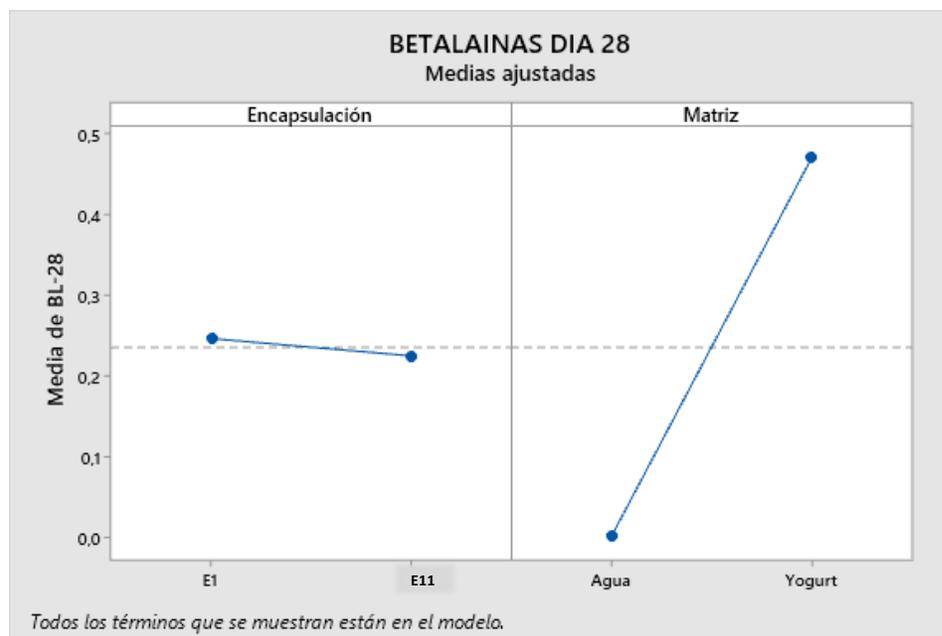
## Efectos principales día 14



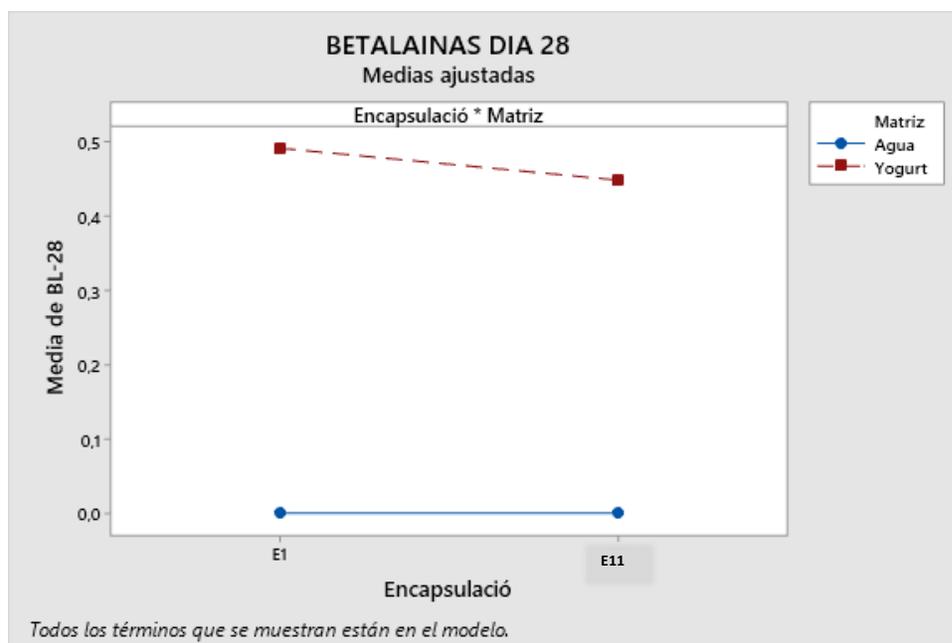
## - Interacciones día 14



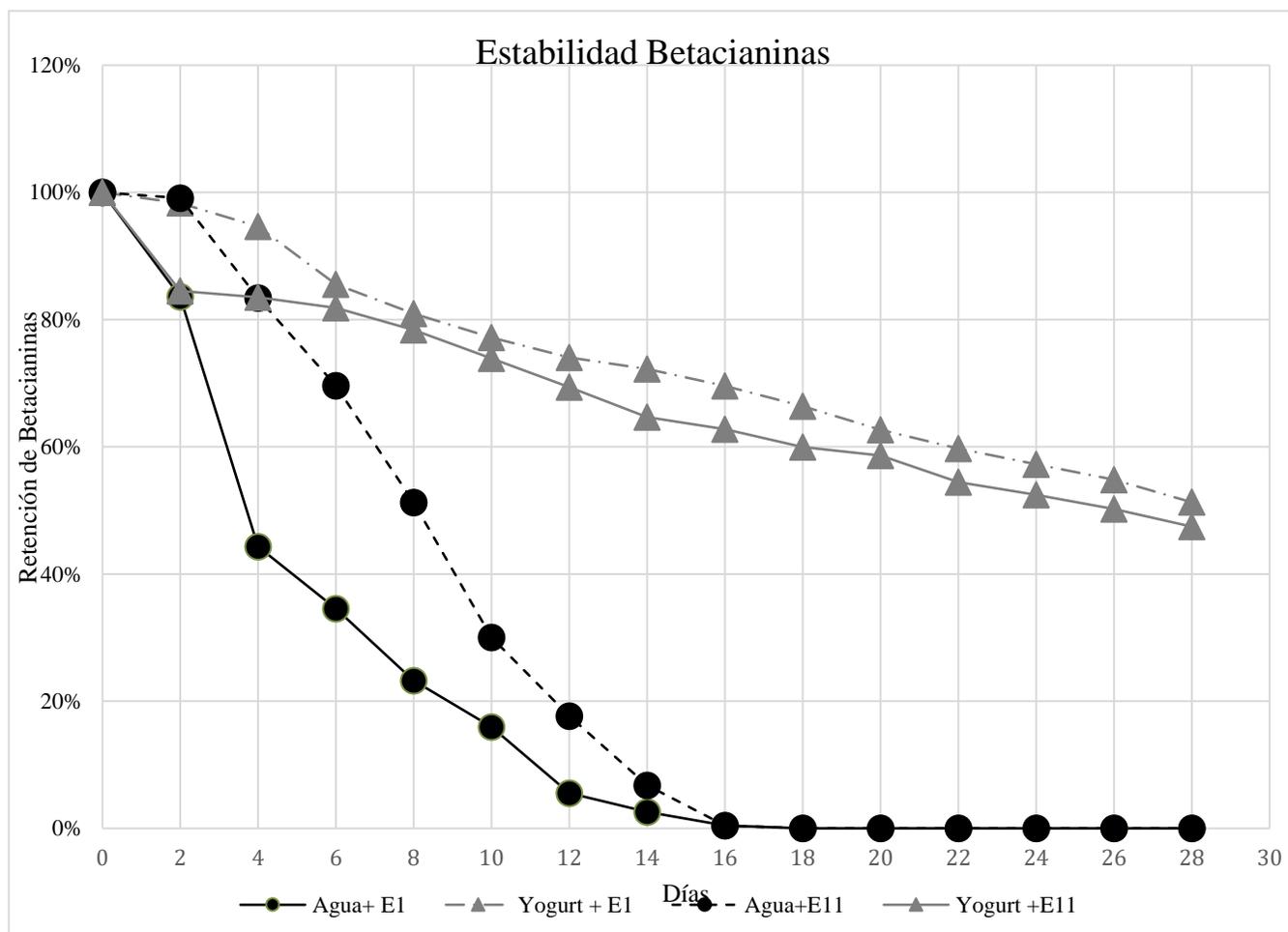
- Efectos principales día 28



- Interacciones día 28

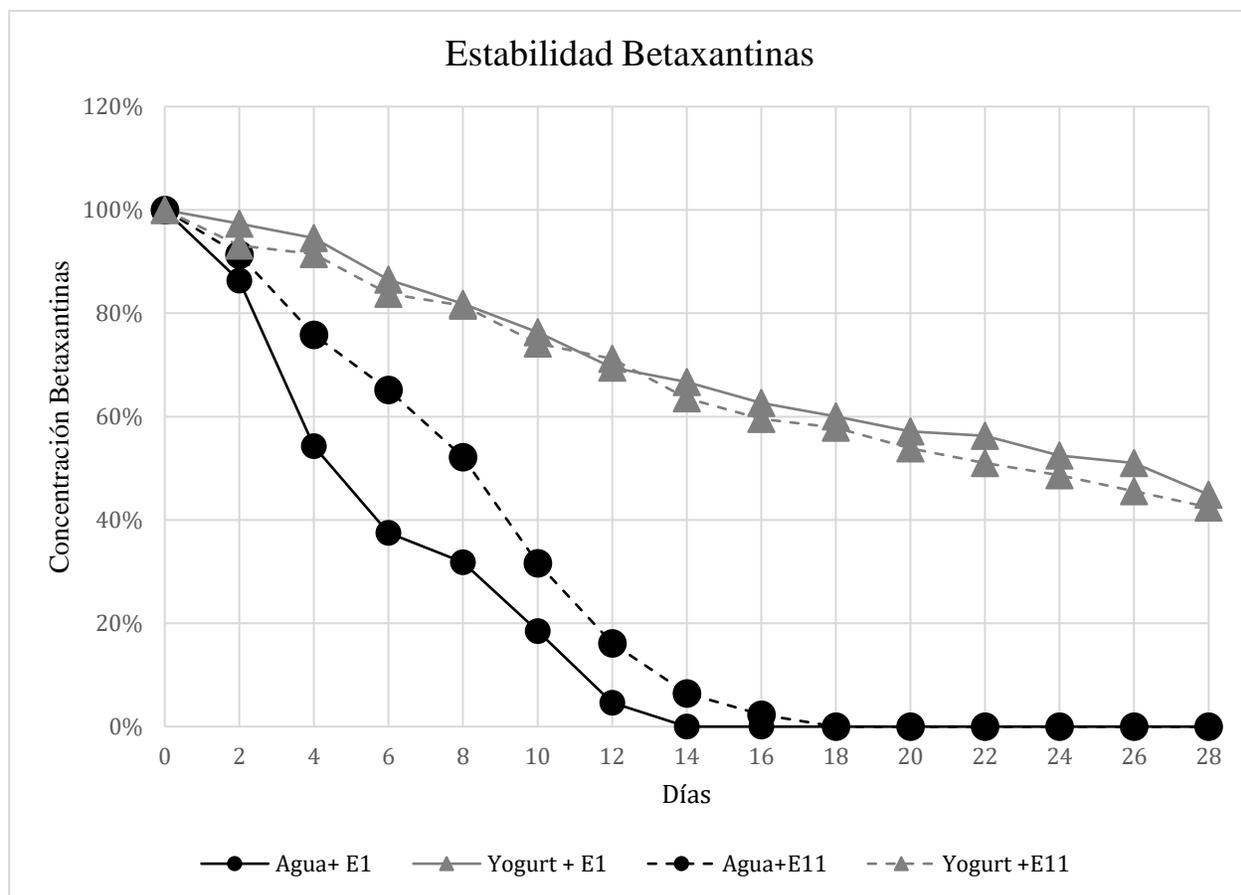


**Anexo G:** Gráficos de la estabilidad en el tiempo de betacianinas y betaxantinas durante el almacenamiento



Encapsulado E1 (10%, Maltodextrina 1:1 núcleo: encapsulante, 0% pectina).

Encapsulado E11 (15%, Maltodextrina 1:1 núcleo: encapsulante, 5% pectina).



Encapsulado E1 (10%, Maltodextrina 1:1 núcleo: encapsulante, 0% pectina).

Encapsulado E11 (15%, Maltodextrina 1:1 núcleo: encapsulante, 5% pectina).