



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN



UNAM

ESTUDIO SOBRE LA ESTABILIDAD
DE POLVO DE BETABEL
Y SU POSIBLE APLICACION EN ALIMENTOS

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERA EN ALIMENTOS

P R E S E N T A N :

**MA. ALEJANDRA PAREDES ASBELL
EVA LETICIA RUVALCABA RUIZ**

DIRECTOR DE TESIS :

DRA. SARA VALDES MARTINEZ

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1991



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

INDICE

	PAGINA
RESUMEN	I
INTRODUCCION	II
CAPITULO I ANTECEDENTES	
1. COLORANTES	1
2. COLORANTES ALIMENTARIOS	1
2.1 IMPORTANCIA DEL COLOR EN LOS ALIMENTOS	2
3. CLASIFICACION DE LOS COLORANTES ALIMENTARIOS	3
3.1 CERTIFICADOS	3
3.1.1 TOXICIDAD	5
3.2 COLORANTES NO CERTIFICADOS O NATURALES	7
3.2.1 TOXICIDAD	10
3.2.2 LIMITACIONES	13
CAPITULO II BETABEL	
1. GENERALIDADES	14
2. CLASIFICACION TAXONOMICA	14
3. MORFOLOGIA	14
4. CULTIVO	15
4.1 CLIMA Y SUELO	15
4.2 VARIEDADES	16
5. VALOR NUTRITIVO	17
6. COMERCIALIZACION	18
7. PIGMENTOS	21
7.1 COMPOSICION	21
7.1.1 BETALAINAS	21
7.1.2 BETACIANINAS	24
7.1.3 BETAXANTINAS	25
7.2 METODOS DE EXTRACCION	26
7.3 ESTUDIOS REALIZADOS	29

	PAGINA
7.4 APLICACIONES	30
CAPITULO III METODOLOGIA	
OBJETIVOS	32
1. DESARROLLO EXPERIMENTAL	33
1.1 PREPARACION DE LAS MUESTRAS	33
1.2 PRUEBAS DE ESTABILIDAD	35
a) EFECTO DEL PH	35
b) EFECTO DE LA TEMPERATURA	36
c) INFLUENCIA DE OXIGENO, NITROGENO, LUZ Y OSCURIDAD	36
d) EFECTO DE ADITIVOS QUIMICOS	38
2. TRATAMIENTO DE DATOS	39
3. APLICACION EN ALIMENTOS	46
CAPITULO IV PRESENTACION Y ANALISIS DE RESULTADOS	
1. ANALISIS BROMATOLOGICO	48
2. ESPECTRO DE ABSORBANCIA	48
3. PRUEBAS DE ESTABILIDAD	49
a) EFECTO DEL PH-ACIDO	49
b) EFECTO DE LA TEMPERATURA	53
c) EFECTO DE OXIGENO, NITROGENO LUZ Y OSCURIDAD	60
d) EFECTO DE ADITIVOS QUIMICOS	63
4. APLICACION EN ALIMENTOS	67
CAPITULO V CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	73
CAPITULO VI REFERENCIAS	75

INDICE DE TABLAS

	PAGINA
1. COLORANTES FD&C HASTA 1940	4
2. LISTA PROVISIONAL DE COLORANTES CERTIFICADOS PARA SU USO EN ALIMENTOS HASTA ENERO DE 1986	6
3. LISTA DE COLORANTES PERMITIDOS PARA ALIMENTOS EN MEXICO POR LA S.S.A.	7
4. CLASIFICACION DE COLORANTES NATURALES PARA ALIMENTOS	8
5. EJEMPLOS DE COLORANTES NATURALES DE APLICACION EN ALIMENTOS	9
6. EJEMPLOS DE FUENTES POTENCIALES DE COLORANTES NATURALES	10
7. LISTA PERMANENTE DE COLORANTES QUE NO REQUIEREN CERTIFICACION PARA SU USO EN ALIMENTOS HASTA ENERO DE 1986	11
8. LISTA DE COLORANTES NATURALES PERMITIDOS EN MEXICO PARA SU USO EN ALIMENTOS HASTA ENERO DE 1986	12
9. VALOR NUTRITIVO DEL BETABEL	17
10. PRODUCCION NACIONAL DE BETABEL (1985-1986)	18
11. USOS DEL COLORANTE DE BETABEL EN ALIMENTOS	31
12. TECNICAS EMPLEADAS EN EL ANALISIS BROMATOLOGICO DEL BETABEL	33
13. OBJETIVOS DE LAS EVALUACIONES SENSORIALES APLICADAS A LOS PRODUCTOS	47
14. RESULTADOS DEL ANALISIS BROMATOLOGICO DEL POLVO DE BETABEL	48
15. INFLUENCIA DEL PH EN EL COLOR DE LAS MUESTRAS	49
16. RESULTADOS DEL ANALISIS FACTORIAL	50
17. PERDIDA DE PIGMENTO EN FUNCION DEL TIEMPO	52
18. EFECTO DE LA TEMP.=30C SOBRE EL % DE PIGMENTO REMANENTE	53
19. EFECTO DE LA TEMP.=100C SOBRE EL % DE PIGMENTO REMANENTE	54

	PAGINA
20. EFECTO DE LA TEMP.=210C SOBRE EL % DE PIGMENTO REMANENTE	54
21. EFECTO DE LA TEMP.=370C SOBRE EL % DE PIGMENTO REMANENTE	55
22. EFECTO DE LA TEMP.=500C SOBRE EL % DE PIGMENTO REMANENTE	55
23. EFECTO DE LA TEMP.=650C SOBRE EL % DE PIGMENTO REMANENTE	56
24. EFECTO DE LA TEMP.=800C SOBRE EL % DE PIGMENTO REMANENTE	56
25. CONSTANTES CINETICAS Y VALOR D PARA EL PIGMENTO EN FUNCION DE LA TEMPERATURA	58
26. EFECTO DE OXI-LUZ SOBRE EL % DE PIGMENTO REMANENTE	60
27. EFECTO DE OXI-OSC SOBRE EL % DE PIGMENTO REMANENTE	60
28. EFECTO DE NIT-LUZ SOBRE EL % DE PIGMENTO REMANENTE	61
29. EFECTO DE NIT-OSC SOBRE EL % DE PIGMENTO REMANENTE	61
30. CONSTANTES CINETICAS Y VALOR D PARA EL PIGMENTO EN FUNCION DE OXI,NIT,LUZ Y OSC	62
31. EFECTO DE EDTA SOBRE EL % DE PIGMENTO REMANENTE	64
32. EFECTO DE AC. ASCORBICO SOBRE EL % DE PIGMENTO REMANENTE	64
33. EFECTO DE AC. ACETICO SOBRE EL % DE PIGMENTO REMANENTE	64
34. EFECTO DE AC. LACTICO SOBRE EL % DE PIGMENTO REMANENTE	65
35. CONSTANTES CINETICAS Y VALOR D PARA EL PIGMENTO EN FUNCION DE ADITIVOS QUIMICOS	66
36. FORMULACION PARA GELATINAS SABOR FRESA Y FRAMBUESA	67
37. FORMULACION PARA GOMITAS SABOR FRESA	68
38. RESULTADOS DE LAS EVALUACIONES SENSORIALES	69

INDICE DE FIGURAS

	PAGINA
1. ESTRUCTURA QUIMICA DE LA BETACIANINA	22
2. ESTRUCTURA QUIMICA DE LA BETANINA	27
3. ESTRUCTURA QUIMICA DE LA BETAXANTINA	28
4. CAMARA DE ESTUDIO DEL EFECTO DE LA LUZ SOBRE LOS PIGMENTOS	37
5. REPRESENTACION GRAFICA DE LA OBTENCION DE K	43
6. REPRESENTACION GRAFICA DE LA OBTENCION DE E _a	43
7. REPRESENTACION GRAFICA DE LA OBTENCION DE D	45
8. REPRESENTACION GRAFICA DE LA OBTENCION DE Z	45

RESUMEN.

Debido al aumento en la demanda de los colorantes naturales rojos, se planteó el estudio de los pigmentos que integran al polvo de betabel, mediante una evaluación de su estabilidad frente a los siguientes factores:

- > pH (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 y 9).
- > Temperatura (30, 100, 210, 370, 500, 650 y 800C).
- > Oxígeno-Luz.
- > Oxígeno-Oscuridad.
- > Nitrógeno-Luz.
- > Nitrogeno-Oscuridad.
- > Aditivos Químicos (Sales de EDTA, Ac. Ascórbico, Ac. Acético, Ac. Láctico).

Para tal efecto, se prepararon soluciones de betabel al 1.5% en ácido cítrico 120 ppm. La pérdida de color se evaluó por espectrofotometría, tomándose lecturas diariamente.

Dicho estudio demostró que la mezcla de pigmentos contenida en el polvo de betabel presenta su máxima estabilidad a las siguientes condiciones:

- > pH = 5.
- > Temperaturas bajas (30 a 370C).
- > Condiciones de oxígeno-oscuridad.
- > En ácido láctico.

El deterioro que presentó el polvo de betabel a altas temperaturas, presencia de luz y pH muy ácido (2,3) fue drástico.

Se obtuvo un valor de Energía de Activación de 20.3 Kcal/mol y un valor de $Z = 39.9$ 0F.

Posteriormente se realizó una investigación del potencial de uso del polvo, aplicándose éste a gomitas sabor fresa y gelatinas sabor frambuesa; evaluando su aceptación o rechazo por análisis sensorial contra productos comerciales.

La aceptación de los productos ante el panel fue alta. Se infiere que el potencial de aplicación del colorante en productos de confitería es bastante explotable, sobre todo si se enfoca hacia productos de exportación.

INTRODUCCION

El uso de colorantes como aditivos en alimentos y bebidas es un factor determinante tanto para el procesador de alimentos como para el consumidor, debido a que el color es la primera impresión sensorial que se tiene de un alimento, el cual puede influir en la percepción de su olor, sabor e incluso textura. (1)

La adición de colorantes refuerza y asegura uniformemente el color que ya estaba presente en los alimentos; así como también ayuda a restaurar la apariencia original de los mismos, ya que debido al procesamiento industrial su color natural se puede ver afectado. Por lo tanto la utilización de colorantes mejora la aceptación del producto por parte de los consumidores al presentar homogeneidad del color.

Los colorantes artificiales han sido por años ideales para reemplazar colores naturales que un alimento pierde en su transformación. Por lo tanto, debido a las necesidades de la industria fue necesaria la creación de mas colorantes artificiales. Ejemplo de ello son los rojo # 1, 2 y 3 que en 1907 la FDA certificó su uso. Posteriormente para 1929 se aprobó la utilización del rojo # 4; y para 1950 el rojo # 32 y el # 40. (2)

Sin embargo, la situación de éstos ha cambiado paulatinamente con el paso de los años. Se ha ido aumentando la restricción en el uso de colorantes artificiales y por otro lado se cuestiona mas la seguridad que puedan proveer hacia el consumidor. En 1988 se prohibió el uso de la laca del rojo # 40. Por último a partir de enero 29 de 1990 la FDA prohibió la utilización de la laca del rojo # 3 en alimentos y drogas. (3)

Todo este panorama coloca a la industria de los alimentos en situación difícil ya que los rojos son muy utilizados en alimentos. (4)

Lo anterior provoca que la industria de los alimentos influenciada por la legislación y los cambios en los patrones de consumo, adopte una conducta diferente y una tendencia hacia la reducción el empleo de aditivos artificiales.

Los colorantes naturales son muy utilizados por las industrias de los alimentos que se dedican a exportar debido a que es mayor la lista de colorantes naturales aceptados internacionalmente que la de los artificiales.

En la actualidad se han intensificado los estudios orientados a sustituir los colorantes artificiales por naturales con la finalidad de dar respuesta a los requerimientos de la industria mediante la utilización de pigmentos naturales.

Tal es el caso del betabel (*Beta Vulgaris*) que produce los pigmentos betalainas y son desde el punto de vista químico aminoácidos con un grupo cuaternario. Las betalainas están formadas por dos tipos de compuestos: las betacianinas y las betaxantinas. Las betacianinas son de color rojo violáceo y su principal componente es la betanina (75-95% de las betalainas). Las betaxantinas están formadas principalmente por las vulgaxantinas I y II, las cuales imparten un color amarillento.

(19,19)

Aunque en México la producción de betabel no es muy grande, se exporta en fresco a países como Estados Unidos y Belice. En los últimos años ha ido aumentando la exportación de colorantes de origen vegetal, de entre los cuales se encuentra el colorante de betabel. Esto es una respuesta clara de la situación que se vive en el mundo y de la cual México puede sacar provecho debido a que puede mejorar las técnicas de extracción del colorante y exportarlo, o aun mejor, elaborar productos de exportación con el colorante y así obtener mayor divisas para el país, debido a la tendencia de sustituir los colorantes artificiales por los naturales

Se han realizado investigaciones sobre el aislamiento y purificación de cada uno de los pigmentos del betabel, sin embargo, no hay estudios sobre extractos enteros, es decir, pigmentos que no hayan sufrido algún proceso de purificación. Por lo cual se plantea el presente estudio sobre la estabilidad de las betalainas contenidas en un polvo de betabel y la investigación de su potencial de uso en alimentos.

CAPITULO I

ANTECEDENTES

1. COLORANTES.

Los colorantes son todas aquellas sustancias que se fijan sobre otras, impartiendoles color y proporcionándoles cierta estabilidad o resistencia a la acción de la luz y a los agentes químicos; la cual no es la misma para todas ellas. La estabilidad frente a factores físicos y químicos varía según su composición y presentación y además de las características del material al cual se incorporan. (13)

Los colorantes, de amplia aplicación en todos los campos, han encontrado en la industria alimentaria una forma de satisfacer el aspecto y la uniformidad que todo producto de hoy en día debe de poseer.

Si bien, el empleo de los colorantes en alimentos data desde la antigüedad, el uso en gran escala de estos aditivos comienza a principios del siglo XIX, con el uso de colorantes naturales y el desarrollo de la industria procesadora de alimentos. (13)

2. COLORANTES ALIMENTARIOS.

Se entiende por colorante alimentario a toda aquella sustancia que se agrega a los productos y bebidas con el fin de proporcionar o intensificar su color. (13)

En términos generales, se puede decir, que existen dos tipos de colorantes: (13)

- Pigmentos.
- Lacas.

Los pigmentos son solubles en agua y se encuentran en el mercado en un gran número de presentaciones. Las mas importantes son: polvos, gránulos, líquidos, pastas, mezclas y dispersiones. Los pigmentos son usados para dar color a una gran variedad de productos, incluyendo bebidas carbonatadas, bebidas destiladas, mezclas secas, pasteles, confituras, productos lácteos, salchichas y alimento para animales. Para los diferentes productos se requiere una presentación diferente del pigmento;

por ejemplo, los polvos y gránulos son usados para bebidas, las pastas y dispersiones para pasteles y confitería, mientras que para los productos lácteos se prefieren los colorantes líquidos

1221

Las lacas son una extensión de los pigmentos solubles en agua, teniendo como sustrato alumina hidratada. Las lacas presentan una mayor variedad de colores y matices que los pigmentos, el contenido de colorante varía del 10 al 50%. En general, las lacas son usadas en productos con base aceitosa y en productos que no contienen suficiente cantidad de agua para disolver el pigmento. Las aplicaciones típicas de las lacas incluyen tabletas de compresión directa, dulces duros, goma de mascar, y muchos otros productos. 1221

2.1 Importancia del Color en los Alimentos.

La importancia del uso de los colorantes en alimentos se debe principalmente, a que estos no tienen el sabor correcto si no presentan la coloración adecuada, el color es la primera impresión sensorial que se tiene de un alimento, el cual puede influir en la percepción de su olor, sabor, temperatura e incluso textura, por parte de los consumidores. 1221

La adición de colorantes a los alimentos es un proceso deseable siempre que el alimento sea sano y aceptable.

Los colorantes alimentarios deben de cumplir con las siguientes características para ser aplicados en alimentos: 1221

> Deben ser seguros para el ser humano a niveles de consumo apropiados para el propósito que se desea.

> En el nivel empleado, el colorante debe de ser insípido e inodoro, o bien sus propiedades organolépticas deben ser inofensivas y deben mezclarse bien con el alimento al cual se agrega.

> Debe de ser estable a la luz, oxidación y reducción, pH y ataque microbiológico.

> Debe de existir compatibilidad entre el colorante y el alimento.

> Debe de ser fácilmente dispersable en caso de no ser soluble.

> Debe de ser altamente soluble en agua y en solventes polares de grado alimenticio y baratos, tales como alcohol y propilenglicol. ,,

El utilizar adecuadamente los colorantes en los alimentos persigue los siguientes objetivos:

> Hacer que el alimento sea mas deseable visualmente, así como tambien ayudar a acentuar o identificar sabores normalmente asociados con ciertos alimentos.

> Asegurar una mayor uniformidad en aspecto, y por lo tanto, en aceptación, mediante la corrección de variaciones naturales en color e irregularidades resultantes del almacenamiento, proceso, empaque y distribución.

> Preservar la identidad por la cual los alimentos son reconocidos.

Cabe mencionar que el uso de colorantes para enmascarar la mala calidad de los alimentos es totalmente inaceptable. ,,

3. CLASIFICACION DE LOS COLORANTES ALIMENTARIOS.

Los colorantes utilizados en alimentos se dividen en:

- 3.1 Certificados.
- 3.2 No certificados.

3.1 Certificados.

Los colorantes certificados o sintéticos son aquellos cuya materia colorante procede de uno o más productos derivados del alquitrán de hulla, es decir, son productos obtenidos por síntesis química. El término "certificado" significa que el lote terminado del cual el colorante es parte ha sido examinado y aprobado por la FDA para uso en la coloración de alimentos. ,,

Muchas veces se utilizan colorantes artificiales en dulces, cereales, helados, postres y otros productos alimenticios; mas que para ocultar la ausencia de un ingrediente o tratar de imitar un alimento natural, para crear variedad a la vista y al gusto del consumidor.

Estos aditivos, no solo suministran color a los alimentos, sin contribuir al valor nutritivo de los productos a los que han sido adicionados, sino que al contrario, la presencia de estos colorantes, algunas veces, indica una deficiencia o carencia de ingredientes naturales.

La razón por la cual, este tipo de colorante ha tenido un rápido desarrollo, se debe principalmente, a sus características de uniformidad, poder tintóreo y variedad de matices que proporcionan a los productos elaborados. (11)

En 1886 el Congreso de Estados Unidos, por vez primera, legalizó la adición de este tipo de colorantes, al permitir su adición a la mantequilla.

A principios de siglo se autorizó al Departamento de Agricultura de Estados Unidos, para que investigara los colorantes sintéticos, como posible problema de salud.

A partir de 1907 se certificaron los siguientes colorantes (12):

- > Tonos rojos: amaranto, ponceau 3R, eritrosina.
- > Tonos anaranjados: anaranjado 1.
- > Tonos amarillos: amarillo de naftol S.
- > Tonos verdes: verde claro SF amarillento.
- > Tonos azules: ácido índigo sulfónico.

En el año de 1938, el Congreso aprobó una nueva ley sobre alimentos, medicamentos y cosméticos, la cual entró en vigor el 1 de enero de 1940, basándose en la inocuidad de los colorantes en productos alimenticios y en algunos datos toxicológicos y farmacológicos adicionales, dicha lista se presenta en la tabla 1 de donde se puede ver que el número de colorantes permitidos se incrementó de 7 a 19.

TABLA 1.

COLORANTES FD&C HASTA 1940.

Amarillo	Azul	Naranja	Rojo	Verde	Violeta
No. 1	No. 1	No. 1	No. 1	No. 1	No. 1
No. 2	No. 2	No. 2	No. 32	No. 2	
No. 3			No. 2	No. 3	
No. 4			No. 3		
No. 5			No. 4		
No. 6					

FUENTE: National Academy of Sciences, "Food Colors", Washington D.C., 1971, U.S.A.

3.1.1 Toxicidad.

Para una mayor seguridad del consumidor la FDA realiza una investigación periódica de la toxicidad de los colorantes sintéticos; de tal forma que se prohíben algunos que habían sido aceptados, se crean nuevos y se encuentran otros bajo control.

En 1955, el Departamento de Drogas y Alimentos consideró que solo el amarillo # 5 (Tartrazina) había sido aprobado adecuadamente. Desde entonces se eliminaron 8 de los 19 colorantes antes aprobados. Se encontró que el rojo # 1 es un agente hepatotóxico; mientras que los amarillos # 3 y # 4 en medio ácido aumentaban su contenido de beta naftilamina, un agente cancerígeno....

El naranja B ha sido utilizado desde 1966 para colorear salchichas.

En 1973, investigaciones japonesas demostraron que el violeta # 1 es un agente cancerígeno cuando es administrado a ratas en un 5% en su dieta....

Para el rojo # 1, la FDA realizó investigaciones con animales de laboratorio, los cuales fueron alimentados con dietas adicionadas con el colorante entre 0 y 5% mostrando que el Ponceau 3R causa daño hepático, cuyo efecto es mortal o provoca daños irreparables.

Historicamente el rojo # 2 es el que ha causado mas controversia en la decisión de su regulación. Dos estudios rusos iniciaron la polémica, argumentando que dicho colorante es carcinogénico y embriotóxico. La FDA en 1976 determinó colocar en la lista provisional al rojo #2, basandose en las evidencias científicas insuficientes para demostrar que el colorante es seguro. Sin embargo, en Canadá, Dinamarca, Suecia, Alemania, Japón y en los países de la Comunidad Económica Europea no está permitido su uso en alimentos. En 1980 la FDA denegó una petición para que estuviera en la lista permanente, basandose de nuevo en evidencias insuficientes; permitiendo solo niveles que no excedan 2 ppm para colorear la cáscara de naranja....

El rojo # 40 es el mas conocido, fue desarrollado a mitad de los años 60's. Canadá inicialmente se rehusó a permitir su uso, despues de que en 1974 científicos de la Health and Protection Branch concluyeron que los datos presentados por los fabricantes para apoyar la seguridad de este colorante eran inadecuadas. Sin embargo, fue aprobado su uso en el mismo año (1974); pero no así para otros países como Suecia, Suiza, Inglaterra y los países de la Comunidad Económica Europea.

El rojo # 3 o eritrosina fue aprobada para su uso en alimentos en USA desde 1907. Diversos estudios realizados no demostraron que tuviera efectos carcinogénicos o genotóxicos.

Para el rojo # 4 se dió por terminado el 23 de septiembre de 1976 su registro provisional en base a estudios que demostraron que el Ponceau 3R administrado aun al nivel de seguridad propuesto, es causante de daño patológico en sistema renal (riñón y vejiga).

En la tabla # 2 se presentan los colorantes sintéticos permitidos provisionalmente hasta Enero de 1986; de donde se puede observar que el número de colorantes certificados ha disminuido en gran medida, principalmente los tonos rojos, debido a que cada vez se cuestiona más la seguridad que puedan proveer hacia el consumidor.

TABLA 2.

LISTA PROVISIONAL DE COLORANTES CERTIFICADOS PARA SU USO EN ALIMENTOS HASTA ENERO DE 1986.

FD&C ROJO # 3	NARANJA B
FD&C ROJO # 40	FD&C ROJO # 40 LACA
FD&C ROJO # 2	FD&C ROJO # 3 LACA
FD&C AZUL # 2	FD&C AMARILLO # 6 LACA
FD&C AZUL # 1	FD&C AMARILLO # 5 LACA
FD&C AMARILLO # 5	FD&C AZUL # 1 LACA
FD&C AMARILLO # 6	FD&C AZUL # 2 LACA
FD&C VERDE # 3	FD&C VERDE # 3 LACA

FUENTE: "Food Colors", Food Technology, 1986.

En 1988 se prohibió el uso de la laca del rojo # 40; y a partir del 29 de enero de 1990 la FDA prohibió la utilización de la laca del rojo # 3 en alimentos y drogas.

Todo este panorama coloca a la industria de los alimentos en una situación difícil, ya que los colorantes rojos son muy utilizados en alimentos.

La Secretaría de Salubridad y Asistencia, que es la que rige el control de colorantes en México considera certificados los colorantes que se muestran en la tabla 3.

TABLA 3.

LISTA DE COLORANTES PERMITIDOS PARA ALIMENTOS EN MEXICO POR LA SSA.

COLORANTE	CLASIFICACION	NOMBRE COMUN
Amarillo # 5	AM Y C	Tartrazina
Azul # 1	AM Y C	Azul Brillante FCF
Azul # 2	AM Y C	Indigotina
Rojo # 2	AM Y C	Amaranto
Rojo # 3	AM Y C	Eritrosina
Rojo # 40	AM Y C	Rojo Allura AC
Verde # 3	AM Y C	Verde Firme FCF

FUENTE: Diario Oficial de la Federación, 18 de Enero de 1988.

Como se puede observar, la lista de colorantes certificados para uso en alimentos es cada día menor. En México los reglamentos se obedecen tardíamente, como en el caso del rojo # 40 y # 3, los cuales fueron prohibidos en 1988 y 1990 respectivamente por la FDA, y en nuestro país se siguen utilizando. Se espera en un futuro inmediato la prohibición de dichos colorantes en nuestro país ya que la SSA basa sus reglamentos en la Legislación de Estados Unidos (FDA).

3.2 Colorantes No Certificados o Naturales.

Los colorantes no certificados o naturales, son aquellos que se obtienen de los vegetales, animales y minerales, y por considerarse inocuos están exentos de certificación.

En la tabla 4 se muestra una clasificación de los colorantes no certificados.

TABLA 4.

CLASIFICACION DE COLORANTES NATURALES PARA ALIMENTOS.		
ORGANICOS	VEGETALES	ANTOCIANINAS Malvidina, Peonidina, Petunidina, Cianidina, Delfinidina.
		BETALAINAS Betacianinas. Betaxantinas.
		CAROTENOIDES Caroteno, Licopeno, Xantofilas, Apocarotenal Cantaxantina, Bixina.
		CLOROFILA A, B, C.
	FLAVONOIDES Kaemferoles, Kercitina, Mercitina.	
	ANIMALES	Acido Carminico. Acido Kernésico. Antraquinoides.
	MISCELANEOS (Iridoides: Md, A.
INORGANICOS (Dióxido de Titanio, Azul Nitramarino.	
MINERALES (Negro Carbón, Acido de Hierro.	

FUENTE: Santos, S.E., "Colorantes en la Industria Alimentaria", UNAM, México, 1981.

La reciente inclinación de los consumidores hacia la seguridad de los aditivos alimentarios y las evidencias de toxicidad de los colorantes certificados, han renovado el interés en la utilización de los pigmentos vegetales como colorantes alimentarios. Estos por su naturaleza son considerados inofensivos.

Los colorantes naturales se han utilizado en los alimentos durante largo tiempo y se les ha aceptado para este uso sin prueba alguna de toxicidad.

Las tablas 5 y 6 presentan ejemplos de colorantes naturales y sus fuentes potenciales, respectivamente.

TABLA 5.

EJEMPLOS DE COLORANTES NATURALES DE APLICACION EN ALIMENTOS.

MATERIALES	RESTRICCIONES
Extractos de Achiote.	Ninguna
Algas desecadas para alimento.	Ninguna
Beta-Caroteno.	Ninguna
Cantaxantina.	66 mg por Kg de alimento
Beta-Apo-8'Carotenal.	33 mg por Kg de alimento
Betabel deshidratado (polvo).	Ninguna
Caramelo.	Ninguna
Extracto de cochinilla.	Ninguna
Jugos de frutas y vegetales.	Ninguna
Extracto de piel de uvas.	Ninguna
Aceite de endospermo de maíz.	Ninguna
Pimentón y su oleoresina.	Ninguna
Riboflavina.	Ninguna
Azafran.	Ninguna
Gluconato ferroso.	Ninguna
Aceite de Zanshoría.	Ninguna
Curcuma y su oleoresina.	Ninguna
Azul ultramar.	Para colorear sal

FUENTE: Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, S.S.A., 4ª edición, 1974.

Como se puede observar en la tabla 5, los colorantes naturales (a excepción de la cantaxantina y el beta-apo-8' carotenal) carecen de restricción alguna para su uso en alimentos, por lo cual son considerados no tóxicos.

TABLA 6.

EJEMPLOS DE FUENTES POTENCIALES DE COLORANTES NATURALES.

FUENTE	COLORANTE PRINCIPAL	COLOR
Zanahoria	Alfa y Beta caroteno	Naranja
Azafran	Crocetina	---
Achiote	Bixina	Amarillo-rojo
Pimentón	Capsantina, Capsoburina	Rojo
Alfalfa	Luteina	Amarillo
Maíz amarillo	Zaexantina, Criptoxantina	Amarillo
Flores de maravilla	Zaexantina	Amarillo
Cáscara de mandarina	Beta-citraurina	---
Cáscara de naranja	Violaxantina	Naranja
Cáscara de uva	Malvidina	Rojo-violáceo
Arandano	Cianidina	Rojo-violáceo
Curcuma	Curcumina	Amarillo naranja con reflejos violáceos.
Betabel	Betanina	Rojo púrpura

FUENTE: Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, S.S.A., 42 ed., 1974.

3.2.1 Toxicidad.

La evaluación de los aditivos para alimentos por la FDA y sus requerimientos de pruebas toxicológicas pueden representar el mas grande obstáculo para los colorantes naturales; ya que es extremadamente difícil definir las especificaciones para los colores naturales debido a que son mezclas complejas de numerosos componentes, los cuales estan en distintas proporciones.

En la tabla 7 y 8 se presentan una lista de los colorantes naturales que ha sido aceptado su uso en alimentos hasta enero de 1986 en Estados Unidos, y en México presentada por el diario Oficial de la Federación el 18 de enero de 1988 respectivamente, en donde se puede observar que las restricciones para dichos colorantes son mínimas. Comparando la tabla 2 y 7 se observa una tendencia hacia la reducción en el empleo de aditivos artificiales, ya que la lista de colorantes naturales aceptados internacionalmente es mayor que la de los artificiales. Tan solo Noruega ha excluido todos los colorantes artificiales de su lista de aditivos permitidos. (11)

TABLA 7

LISTA PERMANENTE DE COLORANTES QUE NO REQUIEREN CERTIFICACION PARA SU USO EN ALIMENTOS HASTA ENERO DE 1986.

COLORANTE	RESTRICCIÓN
Harina o polvo de algas	Solo en comidas para pollos
Extracto de anato	---
Beta-apo-8'caroteno	15 mg/lb
Beta caroteno	---
Polvo de betabel	---
Cantaxantina	30 mg/lb
Caramelo	---
Aceite de zanahoria	---
Extracto de cochinilla	---
Jugos de fruta	---
Extracto de uva	Bebidas alimenticias
Extracto de cáscara de uva	Destilados, bebidas carbonatadas, cervezas y bases de bebidas alcohólicas.
Extracto y polvo de tagetes	Solo en comidas para pollos
Paprika y su oleoresina	---
Azafran	---
Jugos de vegetales	---
Harina de semilla de algodón	---
Azul ultramar	Colorear sal para comidas de animales
Riboflavina	---

FUENTE: "Food Colors", Food Technology, 1986.

TABLA 8

LISTA DE COLORANTES NATURALES PERMITIDOS EN MEXICO PARA SU USO EN ALIMENTOS HASTA ENERO DE 1988.

COLORANTES NATURALES
Aceite de zanahoria (Daucus Carota L.)
Achiote, annato (extracto de semillas de Bixa Orcllana)
Azafrán (estigmas de Crocus Sativus L.)
Beta-apo-8-carotenol
Betabel deshidratado
Beta caroteno
Caramelo
Clorofila
Cochinilla (extracto de carmín)
Curcuma (polvo y oleoresina del rizoma de Curcuma Longa)
Extracto de tegumento de uva (enocianina)
Harina de semilla de algodón
Jugos de frutas
Jugos de vegetales
Pimiento y su oleoresina
Riboflavina
Xantofilas, flavoxantina, rubixantina, zcaxantina.

FUENTE: Diario Oficial de la Federación de los Estados Unidos Mexicanos, 18 de Enero de 1988.

En la actualidad se han intensificado los estudios orientados a sustituir los colorantes artificiales por los naturales, con la finalidad de dar respuesta a los requerimientos de la industria mediante la utilización de pigmentos naturales.

3.2.2 Limitaciones de los Colorantes Naturales.

Son muchas las ventajas que presentan los colorantes artificiales sobre los naturales en cuanto a costo, homogeneidad de color, facilidad de adquisición, etc. Los colorantes naturales presentan serias limitantes de uso, aunque tomando en cuenta las tendencias en la legislación marcan un cambio radical hacia su uso; las principales limitantes que presentan los colorantes naturales con respecto a los artificiales son:

> Los pigmentos son una fuente menos definida y es muy posible que cambie su contenido con el método de extracción.

> Los colorantes naturales tienen una firmeza tintoreal más baja que los colores artificiales, por lo que se requiere de una mayor adición de éstos, lo que incrementa costos.

> La estabilidad de los colorantes naturales frente al calor, a la luz, al oxígeno, a conservadores y pH es baja.

> Los colorantes naturales tienen características aromáticas fuertes, principalmente los derivados del betabel.

> A excepción del betabel y las antocianinas, la mayoría de los colorantes naturales son solubles en aceites y requieren de modificaciones químicas para su uso y estabilizantes para su dispersión en alimentos. (13)

CAPITULO II

BETABEL

1. GENERALIDADES.

El betabel es una planta originaria de Europa. Fue empleada como hortaliza hasta hace poco tiempo, siendo citada por primera vez en el siglo XVI. Su centro de diversificación fue la región oriental del Mediterráneo.

En 1558 fue reportada en Alemania y en América desde 1806 se seleccionaba el bulbo para consumirlo cocido. Antes de explotarse como hortaliza se utilizaba como agente mejorador del color del vino, ya que se pensaba que mientras más intenso fuera el color de éste era de mejor calidad.

En México se le conoce también como remolacha azucarera

(122, 123)

2. CLASIFICACION TAXONOMICA. (122, 123)

Familia: Chenopodiaceae.
Orden: Centrosperma.
Genero: Beta.
Especie: Vulgaris.
Nombre Científico: Beta vulgaris.
Nombre Común: Betabel.

3. MORFOLOGIA.

El betabel tiene un sistema de raíces muy profundo y ramificado. La raíz principal puede llegar a medir de 1.8 m a 2.0 m y lateralmente 60 cm. La parte superior llamada cuello, histológicamente es tallo; se origina en el bulbo y en estado adulto se diferencia de la raíz propiamente dicha en que ésta tiene raíces secundarias, mientras que en el tallo solo rara vez se desarrollan raíces adventicias. El tallo floral puede alcanzar una altura de 1.0 a 1.2 m. (122)

Si se hace un corte transversal en el bulbo se observan una serie de anillos concéntricos que están formados por tejido vascular; hacia la extremidad distal el número de anillos disminuye confundiendo unos con otros. Hay dos clases de anillos concéntricos: los claros (xilema) y los oscuros (floema). Se afirma que cuanto menos anillos claros se tengan mayor será la calidad del betabel. En el tejido de las capas

concéntricas se almacena el azúcar. Cuenta con $2n=18$ cromosomas.

4. CULTIVO.

Es una planta bianual que durante el 1er. año de cultivo produce una roseta de hojas de márgenes enteros o sinuosos, forma oval, con peciolo alargado. En el primer año se desarrolla la parte superior de la raíz. En el segundo año se forma la semilla que queda unida al cáliz de las flores.

La siembra se hace en almácigos (se siembra la semilla de la planta para después transplantarla a otro sitio) o bien, directamente al voleo (se arrojan las semillas a puñados esparciéndose al aire) sobre el terreno, colocando en surcos trazados a unos 30 cm. de distancia un par de semillas en hoyos cada 25 mts. En caso de que las dos semillas germinen se saca la más débil o defectuosa.

El producto se recoge continuamente extirpando las raíces a medida que estas se desarrollan.

Existen dos clases principales de betabel:

- Industrial.
- De Huerta y mesa.

Las primeras son cultivadas extensamente en la mayor parte de Europa porque de ellas se extrae casi todo el azúcar que allí se consume. En México esta variedad no se cultiva.

Por sus siembras escalonadas se puede disponer de betabel durante casi todo el año, debido a que las matas se mantienen casi siempre verdes.

4.1 Clima y Suelo.

El betabel es una planta de clima frío pero también puede explotarse en clima cálido, aunque la calidad del producto obtenido es menor. La temperatura de germinación es de 10°C a 30°C, la temperatura de desarrollo es de 16°C a 21°C presentando así una mejor coloración y un buen contenido de azúcar. Tolera heladas pero a temperaturas altas se forman anillos concéntricos de color blanco.

Es sensible a pH ácidos y se desarrolla mejor en suelos neutros y alcalinos, prefiriendo pH de 6.5 a 7.5. Es altamente resistente a la salinidad; en cuanto a textura se desarrolla mejor en suelos ligeros (arenosos) pues en suelos arcillosos se deforma la parte comestible.

Una vez cosechado se recomienda almacenar a 0°C y 90% de humedad relativa.

Los betabeles de mesa se cosechan en México de acuerdo a los siguientes indicadores de cosecha:

-Diámetro. Cuando presenta un diámetro promedio de 8-10 cm.

-Tiempo. 60-80 días para cultivos precoces. 80-100 días para cultivos medios. 100-110 días para cultivos tardíos.

Generalmente se toman en cuenta los dos indicadores, ya que se checa el diámetro manualmente de algunos betabeles elegidos al azar una vez que se ha cumplido el tiempo de acuerdo al tipo de cultivo.

En conjunto, los betabeles mas apreciados son los que pesan entre 100 y 300 grs. Una vez recolectado se lava, se acaba de deshojar y se separa en tres o cuatro tamaños. Los calibres mas pequeños suelen destinarse a la industria de obtención de colorante y el resto de la cosecha se comercializa para consumo directo. En el almacenamiento deben evitarse las aglomeraciones de raíces.

4.2 Variedades.

Múltiples variedades de betabel son las que se cultivan y esto depende del uso final que se requiera del mismo. A continuación se listan las que comúnmente se cultivan en México:

* Redonda Rojiza. Con raíz redonda de media talla y cáscara oscura, con pulpa sanguínea. Es una variedad precoz de consumo otoño-invernal.

* Chata Negra de Egipto. Variedad precoz de consumo otoño-invernal, con raíz de forma esférica comprimida en los polos con masa dura y de color sangre.

* Negra de Milán. De raíz redonda gruesa con pulpa rojo oscuro.

* Brava Roja. Con raíz de forma esférica, de mediano tallo con pulpa roja.

* Detroit. Variedad precoz con raíz redonda de buenas dimensiones con masa dura rojo sangre.

La variedad Detroit-Dark Red es quizás la más usada para enlatar, congelar o secar. Es importante mencionar que los betabeles que se van a secar se cosechan con un estado de madurez ligeramente rebasando el óptimo.

5. VALOR NUTRITIVO.

A continuación se presentan los principales nutrimentos que contiene el betabel:

TABLA 9.

VALOR NUTRITIVO DEL BETABEL.

COMPONENTE	CANTIDAD
AGUA	85.0 %
PROTEINA	1.6 %
GRASA	0.1 %
CARBOHIDRATOS	9.6 %
FIBRA	0.9 %
CENIZAS	1.1 %
K	335 mg
P	33 mg
Ca	16 mg
Na	60 mg
HIERRO	0.7 mg
TIAMINA	0.03 mg
NIACINA	0.4 mg
VIT. A	20 UI
RIBOFLAVINA	0.05 mg
AC. ASCORBICO	10 mg
VALOR CALORICO	43 cal

FUENTE: Maroto Borrego J., "HORTICULTURA HERBACEA ESPECIAL", Ed. Mundi-Prensa, 2ª ed., Madrid, 1986.

Se ha reportado que los carbohidratos que representan aproximadamente el 10% de los componentes del betabel son: glucosa, sacarosa, manosa, levulosa y hexosa.

Como se puede ver de la tabla, los carbohidratos constituyen el segundo principal componente del mismo. Esta importante cantidad de carbohidratos es uno de los principales obstáculos que se presentan cuando se quiere llevar a cabo la extracción de los pigmentos presentes en el betabel.

Debido al contenido en minerales, vitaminas y a la ya mencionada cantidad de azúcares es una hortaliza que constituye buen aporte nutritivo dentro de la alimentación, y sobre todo recomendable para niños.

6. COMERCIALIZACION.

El betabel es una hortaliza de poca producción en México. Se consume principalmente en fresco y recientemente se ha comenzado a utilizar como agente colorante en alimentos.

La situación productiva del betabel en nuestro país se encuentra en las siguientes condiciones: ...

TABLA 10.
PRODUCCION NACIONAL DE BETABEL (1985-1986).

ESTADO	1	2	3	4	5	6
B.C.N.	6	6	12.167	73	60000	4380
COAHUILA	4	4	27.000	108	43050	4650
GUANAJUATO	45	45	17.289	778	22028	17138
JALISCO	23	23	13.826	318	30000	9540
PUEBLA	17	17	15.000	255	11764	3000
TAMAULIPAS	5	0	0	0	0	0
TOTAL NAL.	100	95	16.126	1532	25266	38708

FUENTE: Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos,
Producción Agrícola 1985-1986.

- | | |
|------------------------------|-------------------------------|
| 1. Superficie Sembrada (Ha) | 4. Producción (Ton) |
| 2. Superficie Cosechada (Ha) | 5. Precio Medio Rural(\$/Ton) |
| 3. Rendimiento (Ton/Ha) | 6. Valor (Miles de Pesos) |

Como se puede apreciar en los datos de la tabla anterior, el betabel puede considerarse una hortaliza de menor producción en la República Mexicana, siendo el estado de Guanajuato el mayor

productor a nivel nacional (aproximadamente el 50% de la producción nacional) siguiéndole Jalisco y Puebla. En el caso de Jalisco la producción del período citado se perdió debido a problemas climáticos, siendo nula la producción de betabel en ese estado.

En cuanto al comercio exterior de esta hortaliza, no se reporta mercado de importación de la misma aunque sí de exportación. Dicho comportamiento se muestra en la gráfica # 1 (Fuente: Anuario Estadístico de Comercio Exterior de los Estados Unidos Mexicanos 1978-1988).

Los países a los cuales México exporta betabel son Estados Unidos y Belice. Como se puede apreciar de la gráfica los años de 1980 a 1985 fueron malos para el mercado de exportación del betabel, siendo 1981 el peor ya que se marcó un fuerte descenso en la exportación. Pero a partir de 1985, hasta 1988 ha ido aumentando gradualmente la exportación y se espera que esta tendencia se mantenga.

Es de suma importancia hacer énfasis en que en los últimos años no todo el betabel producido se destina para su comercialización en fresco, ya que parte de dicha producción se ha estado destinando a la producción de colorante. Esta tendencia se puede ver reflejada en los datos de exportación de materias colorantes de origen vegetal, dentro de las cuales se incluye el colorante de betabel, principalmente en su presentación en polvo. Ver gráfica #2. Fuente: Anuario Estadístico de Comercio Exterior de los Estados Unidos Mexicanos 1978-1988).

Los países a los cuales se están exportando este tipo de colorantes son: República Federal de Alemania, Australia, Bélgica, Luxemburgo, Colombia, Costa Rica, Dinamarca, España, Estados Unidos, Francia, Hong Kong, Italia y Japón; siendo los países que mayor volumen reclaman Estados Unidos, Francia, España e Italia.

En la gráfica # 2 se puede ver un importante descenso en la exportación de colorantes de origen vegetal en el año de 1988, pero en general la tendencia es hacia el aumento; sobre todo ahora que en 1989 y parte de 1990 se han registrado nuevas reformas en la legislación de los colorantes artificiales y que la aceptación de los colorantes naturales va en importante ascenso.

Y aunque la utilización de los colorantes artificiales significa menor costo a la industria, el mercado internacional se está avocando más hacia la seguridad del consumidor, de tal manera que Noruega es un ejemplo de país que no acepta productos alimenticios coloreados artificialmente y Japón marca una tendencia hacia este tipo de consumo.

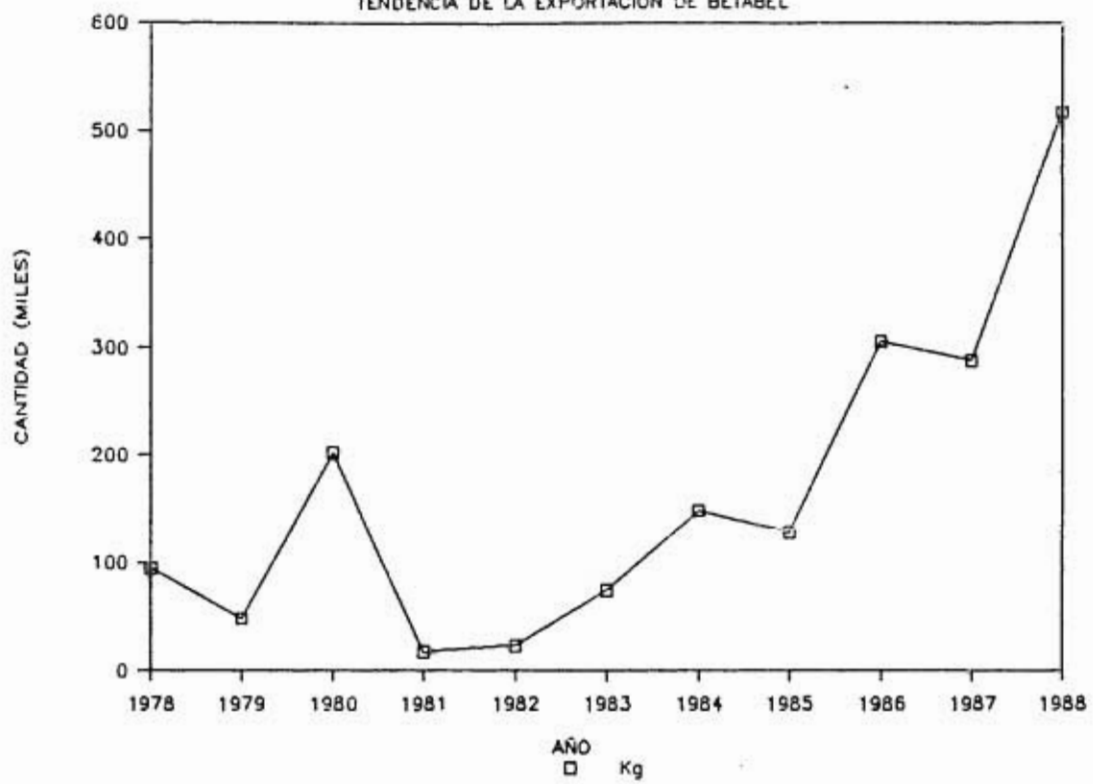
Por lo tanto México tiene en el betabel un recurso bastante explotable en cuanto a colorantes se refiere. Con las diversas técnicas de extracción del pigmento con que se cuenta ya y, con

las diversas aplicaciones que éste tiene, hay oportunidad de competir con otros países en este aspecto. Además, existe también la alternativa de aplicar el colorante en México produciendo productos para exportación siendo ésta situación totalmente aprovechable para el país.

De ahí, que se derive la importancia del desarrollo de nuevas técnicas de extracción, de tal manera que dichas técnicas sean mas baratas y prácticas para la utilización de la industria.

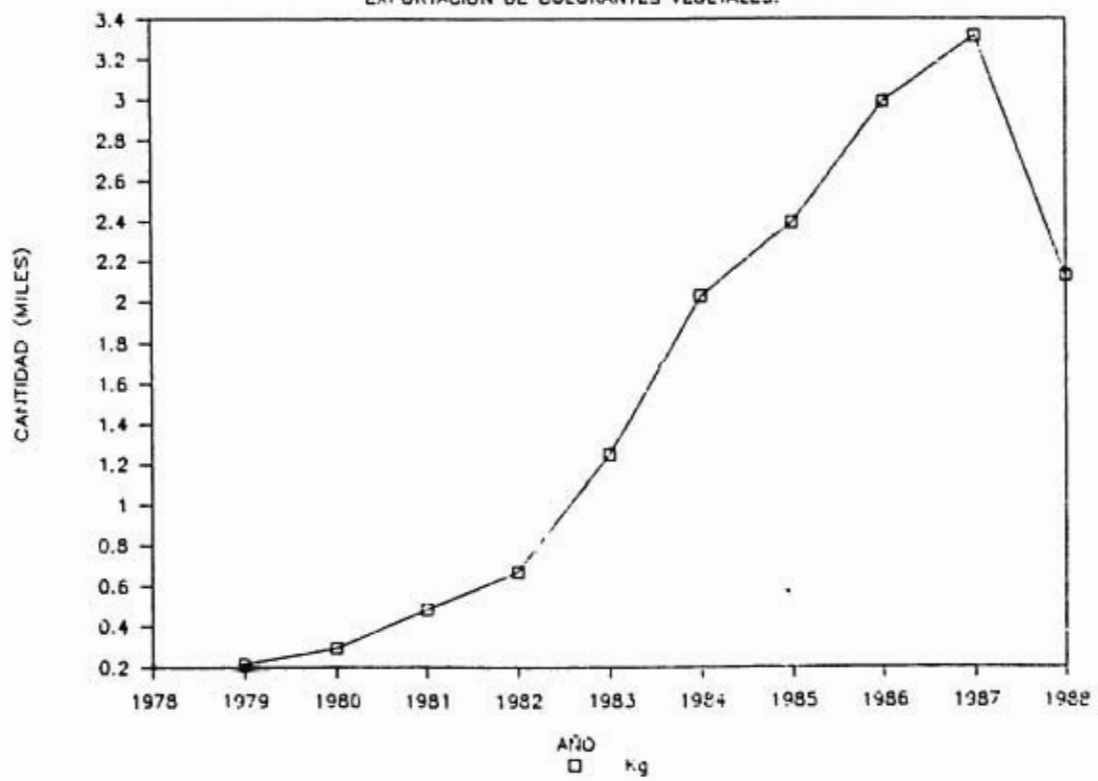
GRAFICA 1.

TENDENCIA DE LA EXPORTACION DE BETABEL



GRAFICA 2.

EXPORTACION DE COLORANTES VEGETALES.



7. PIGMENTOS.

7.1 Composición.

El betabel contiene pigmentos rojos y amarillos que en conjunto son denominados betalainas. Estas están formadas por dos tipos de compuestos: betacianinas y betaxantinas. (13)

Las betacianinas son de color rojo violáceo y su principal componente es la betanina, formando de un 75% a un 95% del total de las betacianinas. La naturaleza de la betanina es altamente iónica debido a que contiene tres grupos carboxilo, dos de ellos con un pKa de 3.4 y otro con un pKa de 2.0, además de un grupo fenólico con un pKa de 8.5, características que hacen a la betanina difícilmente separable de las betaxantinas. (13)

Las betaxantinas están formadas principalmente por las vulgaxantinas I y II, que imparten un color amarillento y son mucho más lábiles que las betacianinas en relación de 1 a 10. (13)

7.1.1 Betalainas.

Se encuentran en un número restringido de plantas y éstas proveen de color a algunas flores y frutas en tonalidades que van del amarillo a través de varios tonos de naranja y rojo a violeta.

En la figura 1 se muestra la estructura química de la betalaina.

- Síntesis. De los factores que gobiernan la síntesis de la betalaina la luz es el factor que más se ha estudiado. Se ha llegado a determinar que la iluminación es un requerimiento absoluto para la síntesis del pigmento en ciertas especies, mientras que en otras la acumulación de betalaina toma lugar en la oscuridad y se incrementa con la irradiación de luz blanca. El fotocontrol de la síntesis del mencionado pigmento presumiblemente ocurre vía activación del gene. Este planteamiento está basado en la acción de inhibidores de ácido nucleico y biosíntesis de proteínas en la síntesis de pigmentos. Sin embargo, se ha comentado la hipótesis de que la activación del gene es controlada por el sistema de un citocromo de baja energía. Bajo condiciones de iluminación con luz blanca (condiciones de alta energía de reacción) la fotosíntesis parece ser el factor dominante en dicha síntesis. La evidencia indica que el efecto de la luz en la betalaina puede ser realizada a dos diferentes niveles, involucrando uno la activación de genes (directa o no) y otro la disponibilidad de compuestos ricos en energía. El efecto de la luz en el sistema genético parece ser

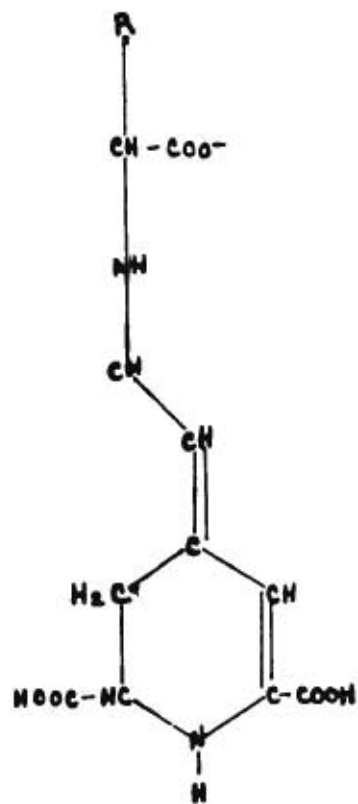


FIGURA 1.
ESTRUCTURA QUIMICA DE LA BETALAINA_(...).

mediado por fotoreceptores mientras que la disponibilidad de compuestos ricos en energía parece estar mediada por citocromos. (11,12)

Por otro lado se sabe que un mecanismo biosintético para la formación de betalainas puede ser formulado a base de la molecula L-dopa que sufre una ruptura oxidativa y una ciclación posterior a ácido betalámico. Este compuesto puede condensarse con aminos o aminoácidos disponibles para producir los diferentes tipos de betalainas. La condensación de ác. betalámico con ciclodopa o un derivado de éste debe dar origen a las betacianinas, en tanto que otras aminos o aminoácidos deben producir betaxantinas. (13) Por lo tanto se ha supuesto ultimamente que el ác. betalámico constituye una llave intermedia en la síntesis de todas las betalainas.

-Inducción Química. Se conocen algunas hormonas y modificadores de crecimiento que modifican la producción de betalainas en un organismo. Ejemplo de ello es la kinetina que es capaz de reemplazar el requerimiento de luz para la producción de dicho pigmento. Los estudios sugieren que la kinetina, como la luz, actua a dos diferentes niveles, principalmente en la activación de genes y por control en la disponibilidad de compuestos ricos en energía. Se ha reportado que otros agentes químicos que incrementan la producción de betalaina son: tirosina y dopa. Por otro lado se sabe que añadir sacarosa estimula la acumulación de betacianina en rodajas de betabel. (14)

- Función. No se ha encontrado evidencia alguna de la función fisiológica o ecológica de la betalaina en el organismo de la planta. Se conoce que cuando están presentes en flores y frutos juegan un papel como las antocianinas, en la polinización por pájaros o insectos. Existe la probabilidad también, de que tengan un efecto inhibitorio contra la reproducción de virus.

- Farmacología. Las betalainas, no obstante su relación estructural con los alcaloides se consideran no tóxicas. Esto se puede deducir por el hecho de que se encuentran presentes en ciertos alimentos de consumo humano, tales como el betabel y tuna cardona. (15)

- Sucesión Genérica. Las betacianinas son en general dominantes sobre las betaxantinas. A su vez la forma púrpura de la betacianina es dominante a la forma rosa de la misma. Por otro lado la forma amarillo-naranja de la betaxantina es dominante a la forma rosa de la misma. (16)

A continuación se describen los compuestos que conforman a las betalainas:

7.1.2 Betacianinas.

Mucho tiempo se les consideró incorrectamente antiocianinas nitrogenadas. Se ha demostrado que las betacianinas y antiocianinas no coexisten en la misma planta o familia y que tienen estructuras diferentes, las cuales indican diferentes patrones de síntesis. Una forma de diferenciarlas es por medio de soluciones débiles ácidas ya que las betacianinas migran hacia el ánodo y las antiocianinas hacia el cátodo. Las betacianinas difieren una de otra en:

- + Su estequiometría del C-15.
- + La naturaleza de su modelo glucosídico en el C-5.
- + La esterificación de los grupos de azúcar, carboxilo e hidroxilo....

- Distribución. La distribución de las betacianinas es limitada, se encuentran presentes en 10 familias: Chenopodiaceae, Didieraceae, Amaranthaceae, Nyctaginaceae, Stegnospermaceae, Phytolaceae, Ficoidaceae, Portulacaceae, Basellaceae y Cactaceae....

- Extracción. Todas las betacianinas son solubles en agua pero insolubles en solventes no polares tales como acetona, cloroformo, éter o benceno. Son ligeramente solubles en alcohol metílico y etanol. La preparación de un extracto crudo del pigmento se basa en esta propiedad de solubilidad.

- Detección. Un número de reacciones de color basado exclusivamente en cambios de pH y no exentos de error se ha propuesto como un medio para distinguir entre las antiocianinas y betacianinas. Se puede emplear cromatografía de papel o electroforesis en papel, el cual ha resultado apropiado para detectar la presencia de betacianinas en materiales vegetales....

- Purificación. Se entiende por purificación la operación que tiene por objeto disminuir lo mas posible todas aquellas sustancias que acompañan a los pigmentos bajo estudio y de presencia inevitable en el extracto acuoso crudo. Implica la remoción de partículas tales como mucílago, pectinas, azúcares principalmente. Actualmente la separación de la fracción total de betacianinas del extracto acuoso se realiza por adsorción no iónica en una resina fuertemente ácida....

- Aislamiento. La separación en betacianinas individuales se realiza por técnicas cromatográficas y/o electroforéticas en papel. La cromatografía en columna hace posible el aislamiento de una cantidad considerable de pigmentos. Piattelli (1964) ha empleado columnas de poliamida para una purificación y separación. Se ha sugerido un tratamiento previo con resinas de intercambio iónico y una cromatografía con cantidades cada vez mayores de metanol y ác. cítrico acuoso como diluyente. Los mejores resultados se han obtenido con electroforésis en papel. (11, 22, 39, 111)

- Principal Componente. La betanina fue aislada en 1957 por Dreiding y Schmidt en forma cristalina. La hidrólisis ácida del monoglucósido produce junto con glucosa una mezcla de dos aglucones: betanidina e isobetanidina, mientras que bajo condiciones más suaves e hidrólisis enzimática se obtiene solamente betanidina. La betanina presenta la fórmula molecular: $C_{11}H_{16}O_8N_2$. Tiene tres grupos carboxilo, dos de los cuales tienen un $pK_a=3.4$ y un átomo de nitrógeno cuaternario con una débil carga positiva neutralizada con el grupo carboxilo en la posición 2 que da al pigmento propiedades anfotéricas. La betanina es el glucósido de la betanidina y ésta es el aglucón de todas las betacianinas. (Aglucones son los residuos dejados después de la hidrólisis de un azúcar). Supuestamente todas las betacianinas que han sido hidrolizadas producen betanidina como aglucón. En la betanidina existen dos átomos de carbono asimétricos: C-2 y C-15. Esta y la isobetanidina tienen la misma configuración en el carbono 2. La única diferencia entre ellas depende del C-15. La de la betanidina es S y la de la isobetanidina es R. En la figura 2 se muestra la estructura química de la betanina. (11, 22, 39, 111)

7.1.3 Betaxantinas.

A pesar de que estos compuestos amarillos ocurren conjuntamente con las betacianinas, poca atención se les ha dedicado. La primera betaxantina conocida en la antigüedad como flavocianina fue aislada de los frutos de OPUNTIA FICUS-INDICA, por lo que recibió el nombre de indicaxantina. Por combinación de los métodos utilizados para la determinación estructural de la betanina, Piattelli (1964) llegó a un compuesto de fórmula $C_{11}H_{16}O_8N_2$, que como la betanina tiene tres grupos carboxilo, dos de ellos con un $pK_a=3.3$ y el mismo átomo cuaternario de nitrógeno con una débil carga positiva que con el grupo carboxilo en la posición 2 proporcionan al pigmento propiedades anfotéricas similares a la betanina. No se ha encontrado ningún grupo fenol ni se ha obtenido ninguna fracción de azúcar por hidrólisis. Los átomos de carbono C-2 y C-11 tienen configuración S y ninguna forma isómera ha sido todavía encontrada en la naturaleza. Se ha

determinado la estructura de dos betaxantinas del betabel, llamandolas vulgaxantina I y II. La diferencia entre ellas y la indicaxantina consiste en que la prolina es reemplazada con los aminoácidos glutamina y ác. glutámico. En la figura 3 se muestra la estructura química de la betaxantina. (11, 12)

- Detección y Aislamiento. No existen pruebas específicas de color para las betaxantinas. Las propiedades electroforéticas son similares a las presentes en las betacianinas, por lo que la electroforésis en papel es el mejor método para su detección. El procedimiento de aislamiento es similar al utilizado para las betacianinas; del total de betacianinas separadas por absorción en una resina de intercambio iónico, las betaxantinas son aisladas por cromatografía en poliamida. Un método muy eficaz para la separación preliminar entre betaxantinas y betacianinas fue desarrollado por Piattelli y Minale en 1964. Aplican el polvo obtenido de un extracto acuoso de betabel a una columna de celulosa donde las betaxantinas se eliminan con metanol, luego las betacianinas se eluyen con agua y se aplica una purificación de estos pigmentos en resinas de intercambio iónico. (13)

7.2 Metodos de Extracción.

Existen algunas presentaciones comerciales de betabel, en forma de concentrado líquido y en polvo. El método de obtención consiste en efectuar una extracción de los pigmentos con un solvente para luego concentrar y emplear el concentrado directamente o bien practicar un secado por aspersión el cual rinde un polvo de color rojo-rosáceo.

Ha sido preciso desarrollar otros procesos para separar los pigmentos del betabel debido a la diferencia de estabilidad existente entre betacianinas y betaxantinas, puesto que esto puede conducir a una pérdida diferencial de color durante el almacenamiento.

Bilyk en 1979 propuso un sencillo sistema de extracción fraccionada empleando metanol y mezclas con ácido clorhídrico, siendo el propósito del ácido protonar los carboxilos y facilitar la extracción. Posteriormente el mismo autor propuso un método de separación empleando cromatografía en capa fina con eluyentes polares como el agua y el etanol, con una acidificación previa de la muestra, obteniendo excelentes resultados.

Otra alternativa para separar y purificar consiste en un aparato de difusión, para el cual se recomienda una extracción

R = GLUCOSA

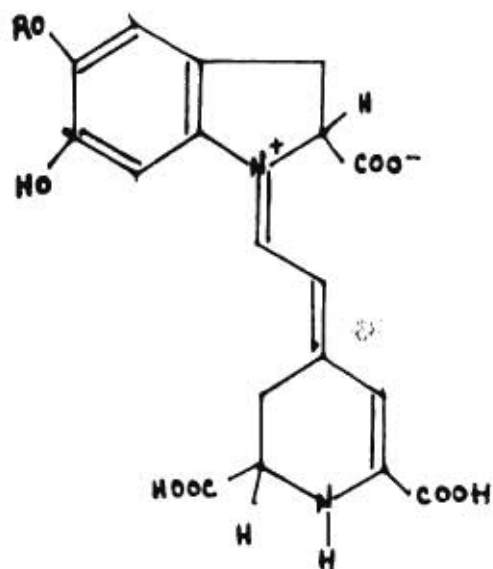


FIGURA 2.
ESTRUCTURA QUIMICA DE LA BETANINA

R = H VULGAXANTINA I
R = OH VULGAXANTINA II

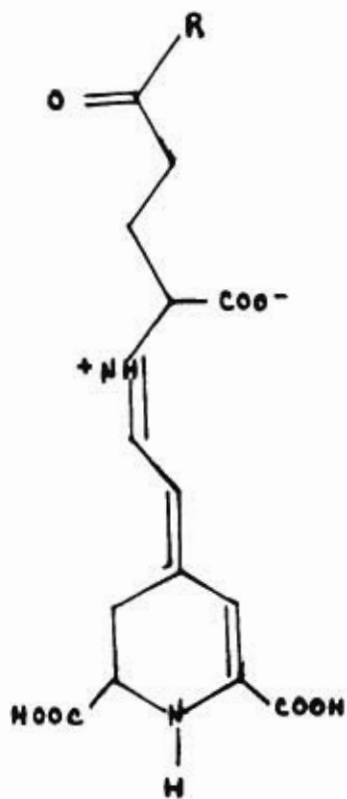


FIGURA 3.
ESTRUCTURA QUIMICA DE LA BETAXANTINA 1401.

sólido-líquido con jugo de betabel de pH=5.2 y con una temperatura inicial de 85°C. Se han empleado procesos de ultrafiltración seguidos por una ósmosis inversa para tal fin. La recuperación de betacianinas ha sido hasta un 70-75% de la cantidad inicial presente en el jugo; con las ventajas de eliminar compuestos como sacarosa, minerales, proteínas. Los pigmentos recuperados no presentan olores o sabores extraños, características presentes en productos obtenidos mediante otros métodos. (11)

Los métodos comunes de separación y purificación emplean la cromatografía con resinas de intercambio iónico o bien electroforésis en papel, los cuales presentan grandes desventajas como: altos costos, largos tiempos de operación requeridos y poco prácticos para fines comerciales.

Los altos costos que representan estos tipos de métodos de extracción han constituido uno de los principales problemas para la aceptación de los mismos dentro de las industrias. Además otra desventaja, es que se necesitan concentraciones mayores de este tipo de colorantes durante su aplicación en alimentos en comparación con los colorantes sintéticos, lo cual disminuye más su valor comercial. Por lo tanto, es importante seguir llevando a cabo investigaciones en este campo.

7.3 Estudios Realizados.

Debido a que son varios los factores que afectan la estabilidad de las betalainas como colorantes en alimentos se han realizado múltiples investigaciones para determinar que factores degradan mas dichos pigmentos.

Un extenso estudio del color en betabeles enlatados, fue llevado a cabo por Lucas y colaboradores en 1960, notando que el procesamiento a altas temperaturas provoca disminución en la intensidad del color, con cambio a un tono anaranjado. (12)

Otro aspecto que ha sido ampliamente estudiado, es la degradación que sufre el betabel y sus pigmentos en presencia de oxígeno. Se ha determinado que una pequeña cantidad de este (6%) en el espacio vacío de botes de puré de betabel esterilizados es suficiente para causar ennegrecimiento cerca de la superficie. (13)

Los metales como Fe⁺, Cu⁺ y Fe⁺⁺ causan una pérdida gradual del color rojo con un cambio a tono anaranjado. En cambio la adición de agentes quelantes como el ácido etilendiaminio tetracético pueden resultar benéficos en la prevención de oscurecimiento. (14)

La estabilidad de las soluciones de betanina o de los alimentos que la contienen, depende en gran manera del pH y la temperatura. El rango de mayor estabilidad para este pigmento es de un pH=4 a un pH=7. A pH's bajos el color se degrada a un amarillo pálido y, a pH's altos a un color violeta. (118,119)

Estudios con soluciones de betanina en sistemas modelados, indican que la velocidad a la cual se degrada sigue aparentemente una cinética de primer orden. Las velocidades de degradación se incrementan por la presencia de aire, luz o una combinación de ambos. El aire incrementa la degradación en aproximadamente un 14%, la luz en un 15%, y la combinación de los dos factores en un 25%, lo cual indica un efecto acumulativo. (119,120,121)

También se ha investigado la estabilidad de estos pigmentos en presencia de ácidos orgánicos, metales catiónicos, antioxidantes y/o secuestrantes. (122)

7.4 Aplicaciones.

El uso de los pigmentos del betabel en alimentos no es nuevo, ya que en el siglo XIX era utilizado para mejorar el color en vinos. Se ha sugerido su uso como mejorador de color en productos cárnicos como salchichas, reduciendo así las concentraciones de nitritos y nitratos. Se han empleado mezclas de betalainas y caramelo para imitar el color de la carne en embutidos con soya. (123,124)

En postres como gelatinas en polvo proporciona el color de la fresa o arándano presentando estabilidad en el color por espacio de seis meses.

Da buenos resultados en productos de confitería como dulces blandos, fondant y rellenos de crema; también encuentra aplicación en helados y leches malteadas así como en bebidas en polvo. (125)

No es recomendable su aplicación en alimentos como caramelos duros y productos de panadería porque presentan cierta inestabilidad.

A continuación se hace una sinopsis de algunos productos alimenticios en los cuales se puede aplicar el betabel. (126,127)

TABLA 11.

USOS DEL COLORANTE DE BETABEL EN ALIMENTOS.

Mezclas de Alimentos Secos.	Sopas secas, sobre todo sopa de tomate, mezclas de especias y proteínas de soya.
Alimentos Enlatados.	Productos de tomate enlatados como Ketchup, salsa para pizzas, frutas y vegetales enlatados tales como cerezas y fresas.
Alimentos en Escabeche.	Rábanos picantes y otras especias en escabeche.
Productos de Carne.	Salchichas, especias mixtas especiales para la carne industrial y hamburguesas.
Productos de Leche.	Melados, crema para sandwich y chocolates con crema y frutas.
Postres y Dulces.	Jalea de Frutas, pasteles, mermeladas y gelatinas.

FUENTE: Spears Kenneth, "DEVELOPMENT IN FOOD COLOURING: THE NATURAL ALTERNATIVES", Food Technology, Vol. 6, # 11, noviembre, 1984.

De los productos mencionados, se han reportado muy buenos resultados en productos lácteos y productos de confitería, inclinándose cada vez más el uso de este tipo de colorante a productos que se expongan poco tiempo a altas temperaturas. También se ha recomendado en algunos casos emplear el colorante en combinación con otro tipo de colorantes ya sea naturales o artificiales, lo cual resulta en una gama de colores mas amplia y aun en una mayor estabilidad en algunos casos. Tal es el caso de los alimentos enlatados como la salsa para pizzas, sopas de tomate y algunos productos cárnicos. (11)

CAPITULO III

METODOLOGIA

Se han realizado investigaciones sobre el aislamiento y purificación de cada uno de los pigmentos del betabel, sin embargo, no hay estudios sobre extractos enteros.

Por lo mencionado anteriormente, esta investigación está enfocada al estudio de un polvo de betabel, el cual fue proporcionado por la compañía deshidratadora "La Cascada" y no ha sido sometido a ningún proceso de purificación.

Para poder llevar a cabo dicha investigación, se plantean los siguientes objetivos:

OBJETIVO GENERAL.

Determinación de la estabilidad del polvo de betabel frente a factores físicos y químicos, así como su potencial de uso en alimentos.

OBJETIVOS PARTICULARES.

- * Evaluar la estabilidad del polvo de betabel a través de su cinética de degradación.
- * Evaluar la estabilidad del polvo de betabel ante factores físicos como: Temperatura, Luz, Presencia y Ausencia de Oxígeno.
- * Evaluar la estabilidad del polvo de betabel frente a factores químicos como pH, Ácidos Orgánicos, Antioxidantes y Secuestrantes.
- * Aplicar el polvo de betabel a un producto alimenticio.

1. DESARROLLO EXPERIMENTAL.

La experimentación se divide en dos etapas:

- > Estudio sobre la estabilidad del polvo de betabel.
- > Aplicación en un alimento.

La metodología seguida se muestra en el cuadro metodológico. (Ver siguiente página).

La parte de estudio sobre estabilidad consiste primeramente en realizar un análisis bromatológico del polvo de betabel, el cual no ha sido sometido a ningún proceso de purificación.

En la realización del análisis bromatológico se utilizaron técnicas oficiales del AOAC, realizando cada análisis por triplicado. A continuación en la tabla 12 se describe el análisis realizado y la técnica empleada.

TABLA 12

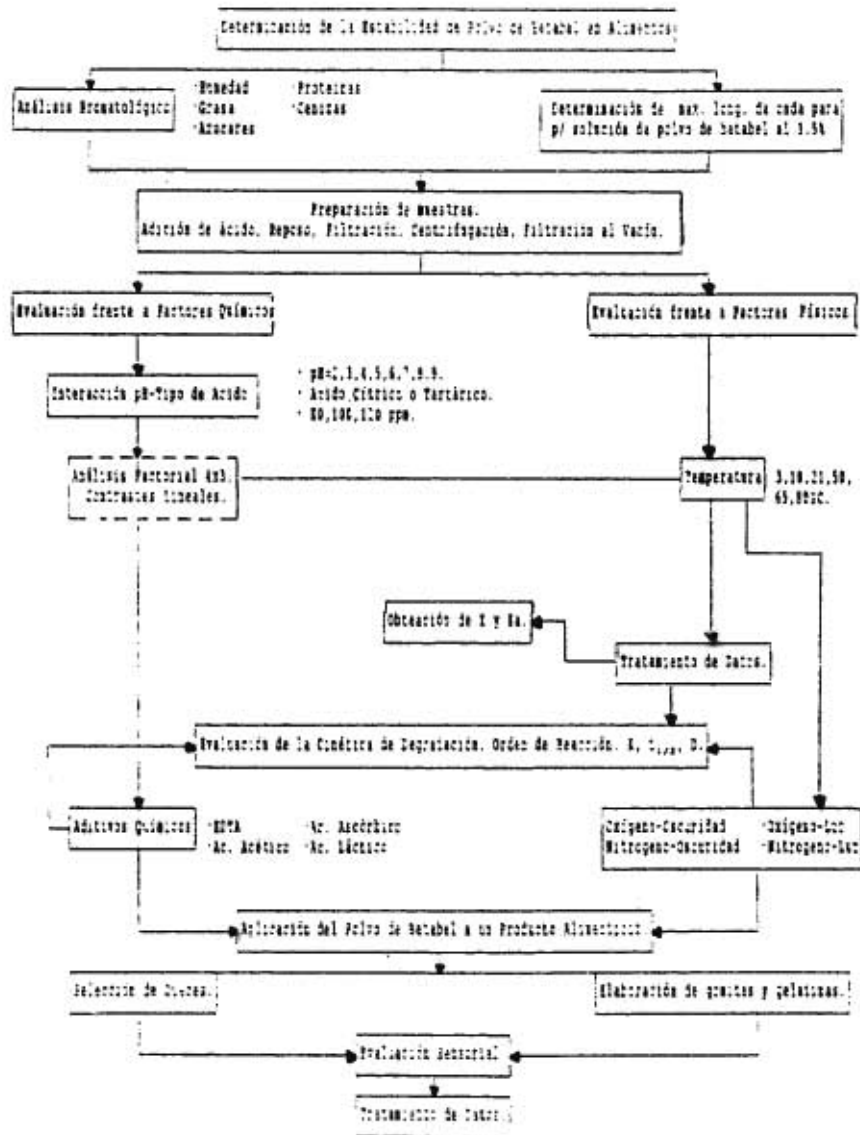
TECNICAS EMPLEADAS EN EL ANALISIS BROMATOLOGICO DEL BETABEL.

DETERMINACION	METODO	TECNICA AOAC
Cenizas	Calcinación en sufla	22.027, 31.012
Humedad	Estufa de secado	22.013
Proteína	Microkjhdahl	22.052, 2.057
Extracto Etéreo	Soxhlet	6.181
Azúcares	Nelson	22.083

FUENTE: Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 14^{ed.}, USA, 1984.

1.1 PREPARACION DE LAS MUESTRAS.

Se prepararon soluciones de polvo de betabel al 1.5% utilizando como solvente agua destilada y adicionando ácido cítrico y ácido tartárico en concentraciones de 80, 100 y 120 ppm con el fin de precipitar fibra y proteína, así como también para obtener una mayor estabilidad. ...



Las muestras así preparadas se colocaron en tubos de ensaye con rosca y protegidos de la luz con papel aluminio, se dejaron reposar durante 48 horas en refrigeración a una temperatura de 10°C. Se filtraron a través de una "manta de cielo" y papel filtro Whatman # 1, para así eliminar el sobrenadante. El producto obtenido de la filtración se centrifugó a 2000 rpm durante 30 min., posteriormente se ajustaron a diferentes pH (2,3,4,5,6,7,8 y 9) mediante una solución amortiguadora de McIlvane, fosfato ácido-cítrico 0.1 M. Las soluciones amortiguadoras con valores de pH de 2 al 9 se prepararon añadiendo HCl 1N y NaOH 1N, respectivamente. Para 1 ml del extracto acuoso (polvo de betabel + agua) se adicionó 4 ml de la solución amortiguadora.

Se realizó un barrido en un espectrofotómetro Beckman DU-64, en la región visible de 320 a 580 nm, para encontrar la longitud de onda en la cual se obtiene la máxima absorbancia de colorante del extracto acuoso.

1.2 PRUEBAS DE ESTABILIDAD.

Son muchos los factores que afectan la estabilidad de las betalainas en la preparación, procesamiento y almacenamiento de los alimentos. Por lo cual se estudiaron las siguientes variables:

- a) Efecto de la interacción pH-Tipo de Acido.
- b) Efecto de la temperatura.
- c) Efecto de oxígeno, nitrógeno, luz y oscuridad.
- d) Aditivos químicos.

a) Efecto del pH.

Para evaluar el efecto del pH, se prepararon soluciones de 25 ml. de la solución de betabel al 1.5% con buffer de McIlvane al pH de 2,3,4,5,6,7,8 y 9.

Las muestras se colocan en frascos ámbar con tapa de 50 ml. para protegerlos de la luz.

El efecto del pH se midió a través de la pérdida de color mediante un espectrofotómetro Beckman DU-84 a 480 nm diariamente hasta que el color del pigmento se degradó a amarillo. Durante este período las muestras se almacenaron a una temperatura de refrigeración de 10°C.

Se realizaron observaciones del cambio de color, tonalidad, transparencia o turbidez de la solución, tomando como base un

color rojo intenso transparente. Cuando se observó un cambio drástico en estas variables (vire de rojo a amarillo), las determinaciones fueron suspendidas.

b) Efecto de la Temperatura.

Con las condiciones establecidas en el punto anterior, tipo de ácido, concentración y PH de mayor estabilidad, se partió para evaluar el efecto de la temperatura en el polvo de betabel.

Para medir el efecto de esta variable, se prepararon muestras de 25 ml. de solución de betabel en frascos ámbar), las cuales se sometieron al efecto de las siguientes temperaturas: 30, 100, 210, 370, 500, 650 y 800C. Tales valores se seleccionaron considerando que el procesamiento de alimentos abarca desde bajas hasta altas temperaturas.

Para el estudio de las temperaturas de 30, 100 se contó con un refrigerador; la temperatura de 210C correspondía a la temperatura ambiente del laboratorio, mientras que para las temperaturas de 370 a 800C se empleó un baño de agua con temperatura regulada. La estabilidad fue evaluada a través del cambio de color, tonalidad y transparencia de la solución, a los siguientes intervalos de tiempo: 1, 3, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 60 y 90 minutos.

c) Efecto de Oxígeno, Nitrógeno, Luz y Oscuridad.

La luz y el oxígeno tienen gran efecto sobre los pigmentos dado que aumentan su velocidad de degradación.

Para conocer el efecto de dichas variables se fijaron las siguientes condiciones:

- Oxígeno-Oscuridad.
- Oxígeno-Luz.
- Nitrógeno-Oscuridad.
- Nitrógeno-Luz.

Muestras de 25 ml. de betabel se prepararon para cada una de las condiciones propuestas.

Las muestras que se sometieron al efecto de la luz, se manejaron en frascos de vidrio transparente con tapa, a diferencia de las que se colocaron en frascos ámbar para el efecto de oscuridad.

Para determinar el efecto de la ausencia de oxígeno cada una de las muestras correspondientes a dicho estudio se burbujearon con gas nitrógeno durante 5 minutos cada una.

Por otro lado se construyó una cámara de 60x40x30 cm. aislada totalmente de luz exterior, la cual posía una fuente lumínica constante (foco de luz blanca de 60 watts), de tal manera que las muestras se colocaron en el centro de la misma para llevar a cabo el estudio y se mantenía constante la exposición a la luz. (Ver figura 4).

Las muestras que se destinaron al efecto de la oscuridad se colocaron en una cámara de 30x20x15 cm. de tal manera que no penetrara luz exterior.

Para todas las condiciones la toma de lecturas de absorbancias y sus respectivas observaciones se realizan cada 24 horas y a una longitud de onda de 480 nm. Las lecturas fueron suspendidas cuando se observó un cambio drástico en la tonalidad, color o transparencia de las soluciones, es decir, cuando la solución cambiaba de rojo a amarillo y ésta se encontraba turbia.

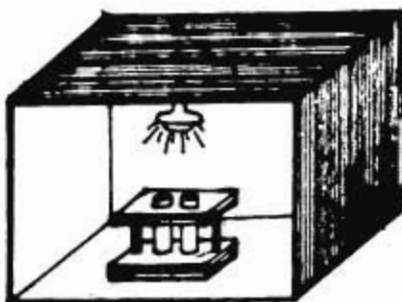


FIGURA 4.

CAMARA DE ESTUDIO DEL EFECTO DE LUZ
SOBRE LOS PIGMENTOS.

d) Aditivos Químicos.

Para medir el efecto de aditivos químicos, se prepararon muestras de 25 ml de solución de betabel, a las cuales se les adicionó 5% p/v de:

- EDTA.
- Ac. Acético.
- Ac. Ascórbico.
- Ac. Láctico.

La selección de dichos aditivos se basó en la frecuencia de uso de los mismos en diversos procesos de alimentos y, tomando en cuenta la posible aplicación de los pigmentos. Por lo tanto fue importante considerar la estabilidad de las betalainas ante los mencionados aditivos.

Las muestras fueron colocadas en frascos color ámbar a temperatura de refrigeración de 10°C. La estabilidad de estas variables se midió a través de la pérdida de color a 480 nm, cambio de tonalidad y transparencia de las soluciones diariamente por un período de 15 días aproximadamente. Las determinaciones se suspendieron cuando se observó un cambio de color de rojo a amarillo y las soluciones se mostraban turbias.

2. TRATAMIENTO DE DATOS.

Debido a que el principal parámetro en estudio fue el color, para la evaluación de los datos se procedió a determinar el porcentaje de pigmento remanente en cada muestra. Dicho porcentaje se obtuvo de la siguiente manera:

$$\%R = \frac{\text{Absorbancia de la muestra al tiempo "X"}}{\text{Absorbancia de la muestra al tiempo 0}} \times 100$$

donde %R= porcentaje de remanente* de los pigmentos.

* Se refiere a la cantidad residual de pigmentos en la solución de polvo de betabel.

De acuerdo al % de remanente del pigmento y a las características de color se puede determinar la estabilidad del pigmento.

De esta forma y por medio de un análisis factorial y la aplicación de contrastes lineales se determinaron las condiciones de pH, tipo y concentración de ácido que afectaban menos a la solución de betabel.

Una manera de cuantificar la pérdida o destrucción de un componente alimenticio, (como por ejemplo color) durante determinado procesamiento o almacenamiento, es mediante modelos cinéticos, se determinó el orden de reacción que presentaba el sistema estudiado.

Para esto, se eligió una corrida al azar y se determinó que tipo de comportamiento presentaba aplicando el método de los mínimos cuadrados para ajustar la recta que se obtenía y, posteriormente se comparó con dos tipos de comportamiento: lineal y exponencial, los cuales corresponden a las siguientes ecuaciones:

$$y = b + mx \dots\dots\dots \text{lineal}$$

$$y = bx^m \dots\dots\dots \text{exponencial}$$

Como es conocido, la mayoría de los sistemas alimenticios presentan cinéticas de reacción de orden cero (comportamiento lineal) o de primer orden (comportamiento exponencial).

A continuación se muestra la secuencia de cálculo que se aplica para reacciones de primer orden:

-Partiendo de una cinética de primer orden:

$$- \frac{\partial A}{\partial t} = KA$$

donde A = Concentración de betalainas presentes en la solución de polvo de betabel.
K = Constante de velocidad de degradación de las betalainas.
t = Tiempo.

- La diferencial de "A" con respecto a "t" nos expresa la rapidez de pérdida de betalainas por cada unidad de tiempo.

- Separando variables e integrando:

$$\int \frac{\partial A}{A} = -K \int \partial t$$

$$\ln A \Big|_{A_0}^A = -K t \Big|_{t_0}^t$$

A₀ = Concentración inicial de betalainas.

$$\ln \frac{A}{A_0} = -K t \dots\dots(1)$$

$$\ln \frac{A}{A_0} = e^{-kt}$$

$$\frac{A}{A_0} = e^{-kt}$$

$$A = A_0 e^{-kt}$$

Representando graficamente la ecuación (1), tenemos en el eje de las "x" tiempo (min), y en el eje de las "y" $\ln A/A_0$, que en nuestro caso corresponde al \ln del % de remanente.

La pendiente de la línea obtenida corresponde a K (constante de velocidad de degradación de las betalainas) en min^{-1} . (Ver figura 5).

Arrhenius en 1889 llegó a la ecuación que representa el efecto de la temperatura en una reacción química y hasta ahora es la que se sigue considerando adecuada para representar tal efecto: 1281

$$K = A e^{-E_a/RT}$$

$$\ln K = \ln A - \frac{E_a}{R} \cdot 1/T$$

- donde K = Constante de velocidad de degradación de las betalainas (min^{-1}).
 A = Constante.
 E_a = Energía de activación (Kcal/mol).
 R = Constante de los gases (Kcal/°K mol).
 T = Temperatura (°K).

Comparando la ecuación de Arrhenius con la ecuación de la línea recta, se puede observar que:

$$\ln K = \ln A - \frac{E_a}{R} \cdot 1/T$$

$$y = b + m \cdot x$$

Por lo que graficando $1/T$ en el eje de las "x" y $\ln K$ en el eje de las "y", se obtiene que $m = -E_a/R$. Dicha energía de activación expresa la energía requerida por un reactante para que ocurra determinada reacción química. Cabe aclarar que dicha energía depende de factores como A_w , cantidad de agua, concentración de sólidos y pH del alimento.....(Ver figura 6).

Otro parámetro que sirve para evaluar la estabilidad de los pigmentos presentes en el polvo de betabel, es el tiempo de vida media, el cual se define como el tiempo necesario para destruir el 50% de las betalainas que se encuentran en la solución.

- Partiendo de la ecuación (1):

$$\ln \frac{A}{A_0} = -Kt$$

$$\ln (A-A_0) = -Kt$$

- Despejando tiempo:

$$t = \frac{\ln A_0 - \ln A}{K}$$

- Siendo $A_0 = 100\%$ de betalainas.
 $A =$ Concentración en tiempo "t".
 $K =$ Constante de velocidad de degradación de betalainas (min^{-1}).

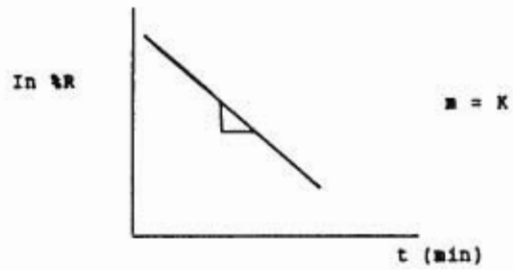


FIGURA 5.
REPRESENTACION GRAFICA DE LA OBTENCION DE K.

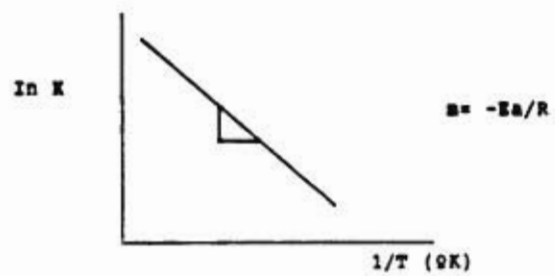


FIGURA 6.
REPRESENTACION GRAFICA DE LA OBTENCION DE E_a .

- Para calcular tiempo de vida media se considera $A_0 = 50\%$:

$$t_{1/2} = \frac{\ln 50 - \ln A}{K}$$

Como consecuencia de que muchas reacciones químicas en alimentos, entre ellas la pérdida de color, dependen de la resistencia térmica que el sistema presente, es importante evaluar esta a través de los valores de D y Z.

El valor D es el tiempo de reducción decimal (min) a una temperatura constante necesario para destruir el 90% de los m.o. presentes. Dicho en otra forma, es el tiempo en minutos requerido para que una curva de sobrevivientes atraviese un ciclo logarítmico. En nuestro caso se hace una analogía de la población de m.o. con la concentración de pigmentos presentes.

Así "D", indica la resistencia térmica que los pigmentos presentan, entendiéndose por ésta el máximo tratamiento de tiempo-temperatura al cual se destruyen las betalainas.

Por lo tanto si graficamos tiempo (min) en el eje de las "x", y $\ln A/A_0$ en el eje de las "y", el inverso negativo de la pendiente nos da el valor de D en minutos. (Ver figura 7).

Z evalúa el cambio en la velocidad de muerte con respecto a cambios en la temperatura, es decir, es el número de QF requeridos para causar un cambio de 10 veces en la velocidad de muerte o en el valor D_{10} , lo cual significa la destrucción térmica característica y la sensibilidad del pigmento al cambio de temperatura.

Por lo tanto, si graficamos en el eje de las "x" temperatura en QF , y en el eje de las "y" $\log D$, el recíproco negativo de la pendiente de dicha línea es el valor de Z. (Ver figura 8).

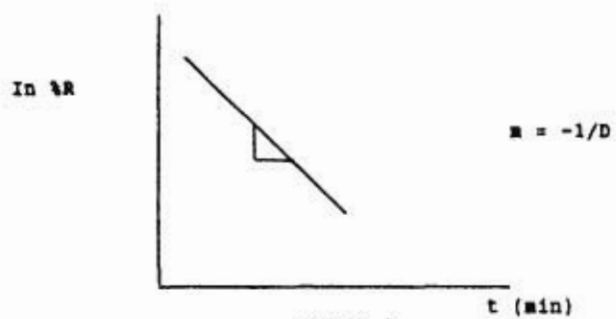


FIGURA 7.
REPRESENTACION GRAFICA DE LA OBTENCION DE D.

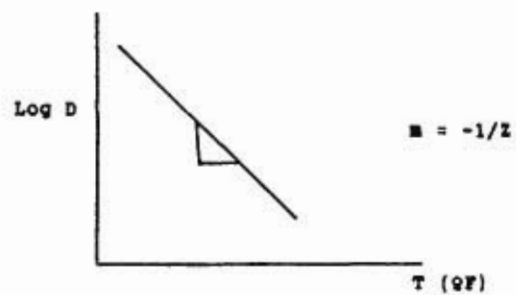


FIGURA 8.
REPRESENTACION GRAFICA DE LA OBTENCION DE Z.

3. APLICACION EN ALIMENTOS.

Para investigar la factibilidad de aplicación de los pigmentos del polvo de betabel como colorante alimentario, se planteó elegir sistemas cuyas características de preparación, procesamiento y almacenamiento permitan la adición de dicho colorante; así como también los factores que afectan la estabilidad del color puedan ser controlados.

Por lo anterior, y de acuerdo a los resultados que se obtuvieron de la primera parte de la experimentación, se aplicó el colorante a dos alimentos y se evaluó su efectividad. El colorante de betabel se aplicó a gelatinas y gomitas.

En el caso de las gelatinas se realizó una prueba para determinar que color le agradaba más al consumidor y determinar así la concentración de colorante de betabel a utilizar. Para lo cual, se aplicó una prueba de preferencia entre 2 gelatinas elaboradas con colorante de betabel (dos concentraciones diferentes) y tres marcas comerciales.

La prueba de preferencia se aplicó a dos grupos potenciales de consumidores: adultos y niños.

Para todas las pruebas sensoriales se trabajó con un promedio de 12 jueces semi-entrenados a los cuales se les seleccionó mediante una prueba de ordenación de acuerdo con su capacidad de diferenciación en intensidad de colores.

Una vez que se determinó la concentración de colorante, se realizó una prueba duo-trío para evaluar la estabilidad del colorante en la gelatina; comparando una gelatina recién elaborada contra una gelatina que tenía una semana de almacenamiento a una temperatura de refrigeración de 10°C, tanto para gelatinas comerciales como para gelatinas experimentales.

Considerando que un colorante alimenticio no debe impartir sabor al producto donde se aplica, y que el polvo de betabel no fue sometido a ningún proceso de purificación, era necesario cerciorarse de que los jueces no detectaran algún sabor extraño en las gelatinas que lo contenían. Por lo cual se procedió a una prueba de nivel de agrado comparando y probando una gelatina con colorante artificial y otra con colorante de betabel.

Paralelamente a estas pruebas, se expusieron a condiciones ambientales (luz, oxígeno, temperatura ambiente) dos gelatinas,

una de marca comercial y otra con colorante de betabel para observar la degradación en color.

A las gomitas que se elaboraron con el colorante de betabel se les aplicó también una prueba de nivel de agrado contra dos marcas comerciales de gomitas. En este caso no se aplicó prueba de diferenciación de color después de un tiempo, debido a que al ser las gomitas un cuerpo opaco cubierto con azúcar la evaluación del color era más compleja y se requerían jueces bien entrenados, ya que de lo contrario la prueba arrojaría resultados subjetivos.

Al igual que con las gelatinas, se expusieron dos gomitas a condiciones ambientales (una comercial y la otra elaborada con el colorante de betabel para verificar la degradación del color al paso del tiempo.

A continuación en la tabla 13 se presentan los objetivos de las pruebas aplicadas en la evaluación sensorial.

TABLA 13.

OBJETIVOS DE LAS EVALUACIONES SENSORIALES APLICADAS A LOS PRODUCTOS.

PRUEBA	OBJETIVO	ANALISIS
PREFERENCIA ADULTOS NIÑOS	Determinar gelatina de mayor agrado en función del color.	Ordenamiento por rangos.
DIFERENCIA DUO-TRIO	Determinar diferencia en color entre gelatinas recién elaboradas y gelatinas con 1 semana de elaboración.	Ji-cuadrada.
NIVEL DE AGRADO	Determinar si el colorante de betabel confiere sabor extraño a la gelatina.	"t" de student.
PREFERENCIA	Determinar gomita de mayor agrado en función del color.	Ordenamiento por rangos.

FUENTE: Pedrero L. Daniel, "EVALUACION SENSORIAL DE LOS ALIMENTOS", Ed. Alhambra Mexicana S.A. de C.V., 1989.

CAPITULO IV

PRESENTACION Y ANALISIS DE RESULTADOS.

1. ANALISIS BROMATOLOGICO.

Los resultados del análisis bromatológico se presentan en la tabla 14.

TABLA 14

RESULTADOS DEL ANALISIS BROMATOLOGICO DEL POLVO DE BETABEL*.

CENIZAS	0.95%
HUMEDAD	85.00%
PROTEINA	1.31%
EXTRACTO ETereo	0.50%
AZUCARES	6.00%
FIBRA CRUDA	0.80%

* Resultados expresados en base húmeda.

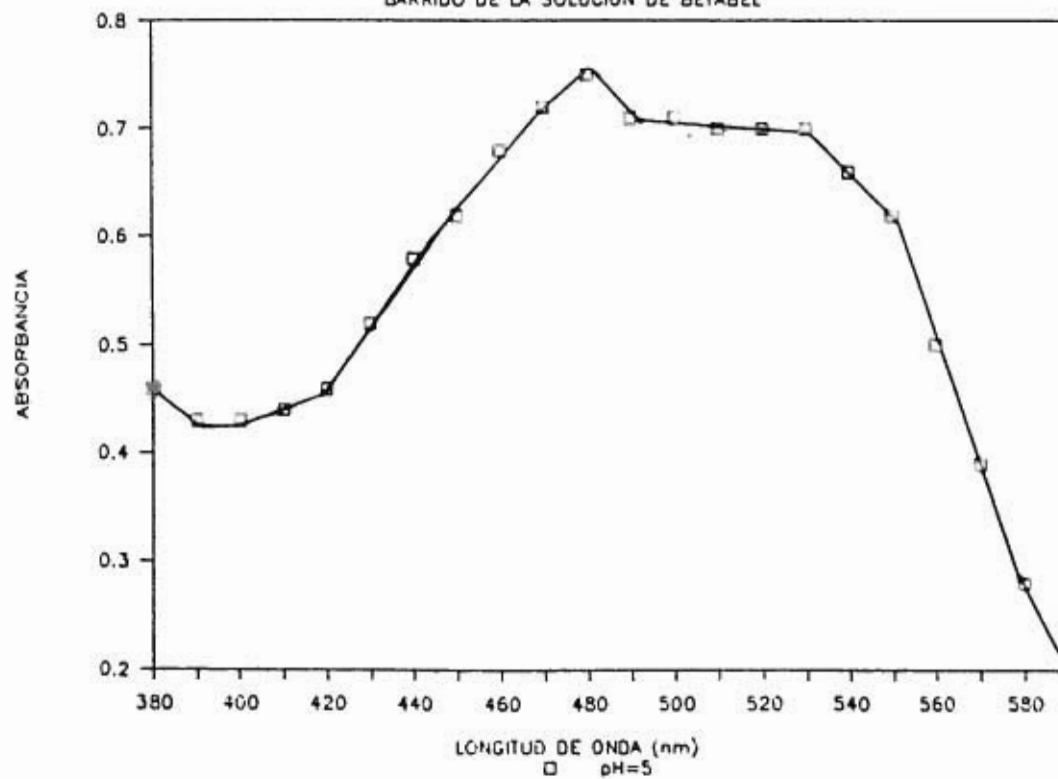
Comparando los resultados obtenidos con lo reportado bibliográficamente, se puede observar que éstos son muy semejantes. Las diferencias se pueden atribuir principalmente a que los datos reportados de la literatura pertenecen a betabel en fresco, mientras que los resultados de la investigación son de polvo de betabel. Además influyen otros factores como variedad del betabel, grado de madurez y el mismo proceso de secado.

2. ESPECTRO DE ABSORBANCIA.

De acuerdo al barrido realizado en el espectrofotómetro Beckman DU-64, se observó la máxima absorbancia para el polvo de betabel a una longitud de onda de 480 nm (ver gráfica 3). Pash y Von Elbe^{1,2,3} reportan la máxima absorbancia para la betanina a 536-538 nm. Ya que los resultados obtenidos no coinciden con lo reportado se considera que esta variación se debe a que en el polvo de betabel no se encuentra la betanina pura, sino una mezcla de pigmentos (betacianinas y betaxantinas), ya que dicho polvo no fue sometido a ningún proceso de separación.

GRAFICA 3

BARRIDO DE LA SOLUCION DE BETABEL



3. PRUEBAS DE ESTABILIDAD.

al Interacción pH-Tipo de Acido

Las muestras de solución de betabel que se sometieron al efecto de los distintos pH's (2 a 9), mostraron efectos diferentes; los resultados se resumen en la tabla 15.

TABLA 15.

INFLUENCIA DEL PH EN EL COLOR DE LAS MUESTRAS.

PH	COLOR
2	Amarillo pálido, transparente.
3	Amarillo pálido, transparente.
4	Rojo brillante, transparente.
5	Rojo brillante, transparente.
6	Rojo brillante, transparente.
7	Naranja pardo, opáco.
8	Naranja pardo, turbio.
9	Naranja pardo, turbio.

NOTA: Resultados obtenidos despues de 5 días de almacenamiento a 10°C.

De acuerdo a las observaciones realizadas se pudo constatar que bajos valores de pH (2,3) provocaron un cambio de color en el pigmento (de rojo intenso a amarillo pálido). Y, por otro lado, los valores de pH de 7,8 y 9 ocasionaron un color naranja pardo en las muestras. Los valores de pH de 4,5 y 6 no provocaron cambios extremos, ya que las soluciones del pigmento no se vieron modificadas en color, transparencia y no presentaron turbidez alguna.

Como las muestras con valores de pH de 4,5 y 6 presentaron valores de retención del pigmento y características de color similares, fue necesario realizar un análisis factorial y la aplicación de contrastes lineales para determinar que factor influía de manera más significativa en el contenido de pigmentos.

En la Tabla 16 se muestran los resultados obtenidos del análisis factorial considerando:

FACTOR A = PH (4,5,6).
 FACTOR B = TIEMPO (1,2,3,4 y 5 DIAS).
 FACTOR C = CONCENTRACION DE ACIDO (80,100 y 120 PPM).
 FACTOR D = TIPO DE ACIDO (TARTARICO, CITRICO).

TABLA 16.
 RESULTADOS DEL ANALISIS FACTORIAL.

FUENTE DE VARIACION	NIVEL DE SIGNIFICANCIA ($\alpha = 5\%$)
EFFECTO PRINCIPAL	
A	**
B	*
C	*
D	*
2 FACTORES	
AB	*
AC	*
AD	**
BC	*
BD	*
CD	*
3 FACTORES	
ABC	*
ABD	**
ACD	*
BCD	*
4 FACTORES	
ABCD	*

* No Significativo
 ** Diferencia Significativa

Por lo tanto existe diferencia significativa en el factor A (pH), interacción AD (pH-Tipo de ácido) y la interacción ABD (pH-Tiempo-Tipo de ácido). Es decir, el cambio que sufre la concentración de betalainas está influenciado por el pH, el efecto conjunto del pH-Tipo de Acido y la interacción pH-Tiempo-Tipo de Acido.

Tomando en cuenta que el conocer que factores afectan menos la cantidad de betalainas presentes en la solución es importante, se aplicó una prueba de contrastes lineales para determinar que pH y que ácido nos proporcionaban la mayor estabilidad.

La técnica de contrastes lineales dió como resultados que la cantidad de betalainas se vió mas afectada a los pH's 4 y 6 y por la combinación de éstos con ácido tartárico, por lo cual las betalainas son más estables en presencia de ácido cítrico.

El pH en que las betalainas del polvo integral de betabel presentaron su mayor estabilidad fue de 5. El ácido mas adecuado fue el cítrico a 120 ppm. Aunque cuantitativamente la concentración de ácido no tenía efecto alguno, cualitativamente las soluciones preparadas con esta concentración de ácido estaban más cristalinas.

Los resultados que se obtuvieron para la mezcla de pigmentos de betabel (betacianinas y betaxantinas) parecen no diferir con datos reportados para extractos puros, ya que para los primeros se obtuvo un pH de mayor estabilidad de 5. Von Elbe (1978) reporta el mismo valor para una solución de betanina pura. Huang en 1974 concluye haber obtenido pH's de 4 y 5 de máxima estabilidad para extractos de betanina pura también.

En la tabla 17 se muestran los valores que se utilizaron para determinar el orden de reacción del sistema. Para dicho efecto, de los datos que se tenían de la corrida de pH=5, ác. cítrico 120 ppm se sacó un promedio. A continuación se presentan los valores mencionados:

TABLA 17.

PERDIDA DE PIGMENTO EN FUNCION DEL TIEMPO.
PH=5 AC. CITRICO 120 PPM.

REMANENTE (%)	TIEMPO (DIAS)
100.00	0
94.4444	1
88.8888	2
85.5555	3
83.3333	4
77.7777	5

r = -0.9891 r' = 0.9784
m = -3.8888
b = 97.6666

Para estas condiciones, la degradación de las betalainas se llevó a cabo lentamente, ya que las muestras a los cinco días presentaban características de transparencia, color y tonalidad similares a las del inicio de la experimentación. Esto se corrobora con la cantidad de pigmentos presentes en la solución (77.77%), el cual después de 5 días se degradó poco (aproximadamente una tercera parte).

Al aplicar el método de los mínimos cuadrados y comparar con los modelos planteados (lineal y exponencial) se obtuvieron los siguientes resultados:

LINEAL		EXPONENCIAL	
r=-0.9999	r'= 0.9998	r=-1.0000	r'= 1.0000
m=-3.8888		m= 0.0196	
b=97.6658		b= 1.9924	

Debido a que con el comportamiento exponencial se obtuvo un valor de correlación mas alto para la recta ajustada, y el coeficiente de determinación, el cual expresa el cambio que sufre "y" (% de remanente de betalainas) con respecto a "x" (tiempo) es mayor, se concluye que la cinética de reacción es de primer orden.

b) Efecto de la Temperatura.

Los promedios de los porcentajes de pigmento remanente, que se obtuvieron de los datos en función de la temperatura, se muestran en las tablas 18 a 24:

TABLA 18.

EFFECTO DE LA TEMPERATURA=30C SOBRE EL % DE PIGMENTO REMANENTE

REMANENTE (%)	TIEMPO (MIN)
100.00	0
75.29	1440
84.70	2880
70.58	4320
82.35	5760
62.35	15840
60.00	20160
70.58	21600
61.17	24480
68.23	25920
68.23	30240
63.52	31680
60.00	33120
52.94	34560
61.17	36000
56.47	41760
56.47	43200
58.82	46080
45.88	51840
55.29	53280
52.94	54720

TABLA 19.

EFFECTO DE LA TEMPERATURA=109C SOBRE EL % DE PIGMENTO REMANENTE

REMANENTE (%)	TIEMPO (MIN)
100.00	0
94.44	1440
88.88	2880
85.55	4320
83.33	5760
77.77	10080

TABLA 20.

EFFECTO DE LA TEMPERATURA=219C SOBRE EL % DE PIGMENTO REMANENTE

REMANENTE (%)	TIEMPO (MIN)
100.00	0
78.94	5760
71.57	10080
61.05	14400

TABLA 21.

EFFECTO DE LA TEMPERATURA=37°C SOBRE EL % DE PIGMENTO REMANENTE

REMANENTE (%)	TIEMPO (MIN)
100.00	0
100.00	1
100.00	4
100.00	9
95.55	19
94.44	34
88.88	54
85.55	84
75.55	124
73.33	184
44.44	274

TABLA 22.

EFFECTO DE LA TEMPERATURA=50°C SOBRE EL % DE PIGMENTO REMANENTE

REMANENTE (%)	TIEMPO (MIN)
100.00	0
94.73	1
94.73	4
89.47	9
84.21	19
78.94	34
73.68	54
67.36	84
63.15	124
50.52	184
49.47	274

TABLA 23.

EFEECTO DE LA TEMPERATURA=65°C SOBRE EL % DE PIGMENTO REMANENTE

REMANENTE (%)	TIEMPO (MIN)
100.00	0
94.44	1
80.00	4
77.77	9
71.11	19
66.66	34
57.77	54
46.66	84
33.33	124

TABLA 24.

EFEECTO DE LA TEMPERATURA=80°C SOBRE EL % DE PIGMENTO REMANENTE

REMANENTE (%)	TIEMPO (MIN)
100.00	0
88.88	1
66.66	4
60.00	9
54.44	19
47.77	34
37.77	54
18.88	84

El efecto que tiene la temperatura sobre los pigmentos del polvo de betabel fue claro, ya que para altas temperaturas la pérdida gradual del color se dió tan solo en minutos. Como se puede apreciar, esto sucedió sobre todo para temperaturas de 80°C y 65°C.

En cambio para bajas temperaturas como fueron las de 3°C, 10°C y 21°C, el tiempo de permanencia del color del pigmento se extendió hasta por días, sobre todo para la temperatura de 3°C ya que permaneció en óptimas condiciones por espacio de 38 días.

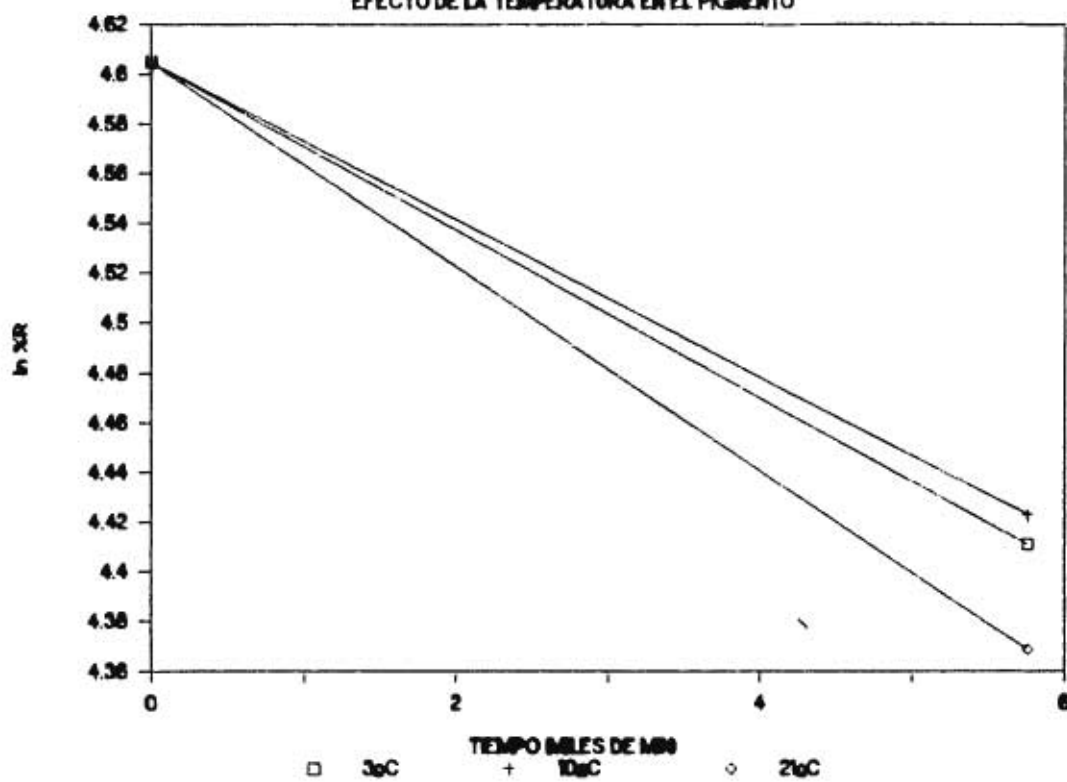
Estos dos tipos de comportamiento se pueden apreciar en las gráficas # 4 y 5.

En la gráfica # 4 se observan comportamientos similares para las temperaturas de 3°C y 10°C, mientras que la diferencia en cuanto a tendencia se marca para la temperatura de 21°C.

Ahora, al comparar el % de remanente del pigmento para un mismo tiempo (5760 min) a bajas temperaturas (3°C, 10°C y 21°C), se observa que a la temperatura de 21°C se obtiene el menor porcentaje de pigmento (78.9%), y aunque el porcentaje de la temperatura de 10°C es mayor que la de 3°C (83.3%, 82.3% respectivamente) las características de color fueron mejores en las soluciones que se sometieron al efecto de la congelación (3°C). Es probable que el efecto de la congelación y descongelación de las muestras para llevar a cabo la toma de lectura de absorbancia diaria haya afectado la cantidad de los pigmentos presentes; aunque es muy importante señalar que las características de color y transparencia de las muestras fueron las mejores que se obtuvieron de todas las temperaturas estudiadas, debido a que las betalainas son sumamente termolábiles.

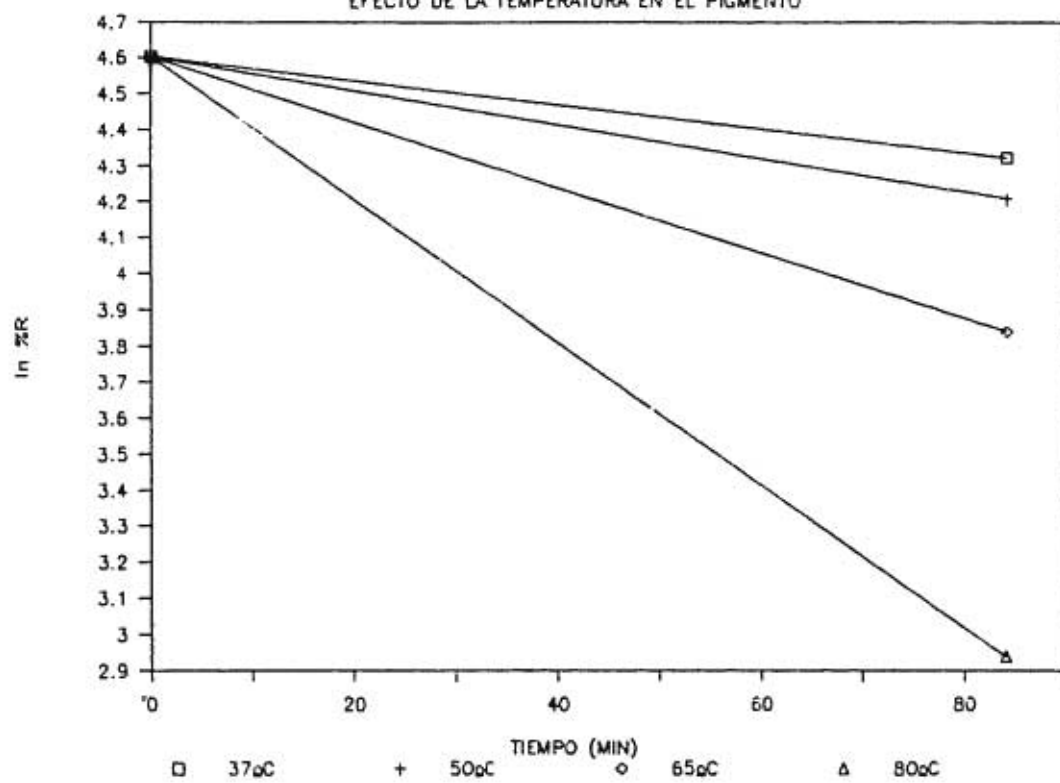
En la gráfica # 5 se pueden apreciar que las temperaturas de 37°C y 50°C presentan comportamientos similares; y el efecto adverso que tiene la temperatura de 80°C es claro en la gráfica ya que se puede ver el marcado descenso que hay en la cantidad de pigmento remanente. Las soluciones de betabel que se sometieron al efecto de dicha temperatura presentaron un fuerte descenso en los primeros minutos en su color, siendo éste de un rojo extremadamente pálido y finalmente amarillo. Saguy I reporta en 1978 que la degradación de los pigmentos debido al calentamiento conduce a una degradación de betanina a ácido betalámico y asimismo, la degradación de éste a varios compuestos produciendo pigmentos oscuros.

GRAFICA 4
EFECTO DE LA TEMPERATURA EN EL PIGMENTO



GRAFICA 5

EFEECTO DE LA TEMPERATURA EN EL PIGMENTO



De acuerdo a la secuencia de cálculo descrita en el capítulo III se calcularon las constantes de velocidad de degradación, el tiempo de vida media y el valor D (Ver Tabla 25).

TABLA 25.
CONSTANTES CINÉTICAS Y VALOR D PARA EL PIGMENTO EN FUNCIÓN DE LA TEMPERATURA.

TQ	r	r'	K	t _{1/2}	D
3	-0.8651	0.7485	8.821X10 ⁻⁴	275429.85	113355.64
10	-0.9696	0.9402	2.439X10 ⁻³	98002.16	40989.12
21	-0.9946	0.9893	3.340X10 ⁻³	71478.01	29934.18
37	-0.9660	0.9333	2.627X10 ⁻³	915.94	380.58
50	-0.9560	0.9140	2.646X10 ⁻³	899.12	377.91
65	-0.9824	0.9652	7.938X10 ⁻³	102.98	125.97
80	-0.9672	0.9356	0.0168	143.82	59.23

r = Coeficiente de correlación.
 TQ = Temperatura (°C).
 K = Constante de velocidad de degradación (min⁻¹)
 D = Tiempo de reducción decimal para destruir el 90% de pigmentos presentes (min).
 t_{1/2} = Tiempo de vida media (min).
 r' = Coeficiente de determinación.

La constante de velocidad de degradación confirma el efecto negativo de temperaturas altas sobre la estabilidad del pigmento. Para 3°C se tiene una K igual a 8.82 x 10⁻⁴ min⁻¹ y para 80°C se incrementa dicha constante hasta 0.0168 min⁻¹. El cambio que se registra para el valor de D es igualmente marcado para la temperatura de 80°C.

Von Elbe en 1974 reporta para un extracto de betanina puro a pH=5 y una temperatura de 75°C un tiempo de vida media de 90 min; Phillip presenta en 1978 para soluciones de betanina pura a pH=5 un tiempo de vida media de 310 min para 50°C, y para 25°C un tiempo de vida media de 1150 min. Esto indica que las soluciones de betabel con la mezcla de pigmentos presentan tiempos de vida media mayores a los reportados.

bibliográficamente. Sobre todo la temperatura de 25°C si la comparamos con el dato experimental de 21°C la diferencia que presentan entre uno y otro es muy grande (aproximadamente 62 veces mayor).

Esta situación probablemente se deba a un efecto amortiguador de la mezcla de los dos pigmentos (betacianinas y betaxantinas) hacia la temperatura, debido a que las betaxantinas son más lábiles en relación de 1 a 10

En la gráfica 6 y 7 se muestra el efecto de la temperatura en los tiempos de vida media. De las mismas se puede observar que para temperaturas bajas la diferencia se marca para los 30°C notablemente; mientras que para las altas temperaturas, los tiempos de vida media para 37°C y 50°C son muy parecidos. Posteriormente hay un cambio hacia los tiempos de vida media similares de 65°C y 80°C los cuales son muchos menores que para las primeras temperaturas, lo cual indica una alta termosensibilidad de las betalaínas.

La energía de activación y el valor Z que se obtuvieron de acuerdo a la secuencia de cálculo son los siguientes:

$$E_a = 20.2159 \text{ Kcal/mol.}$$

$$Z = 39.9042 \text{ }^\circ\text{F.}$$

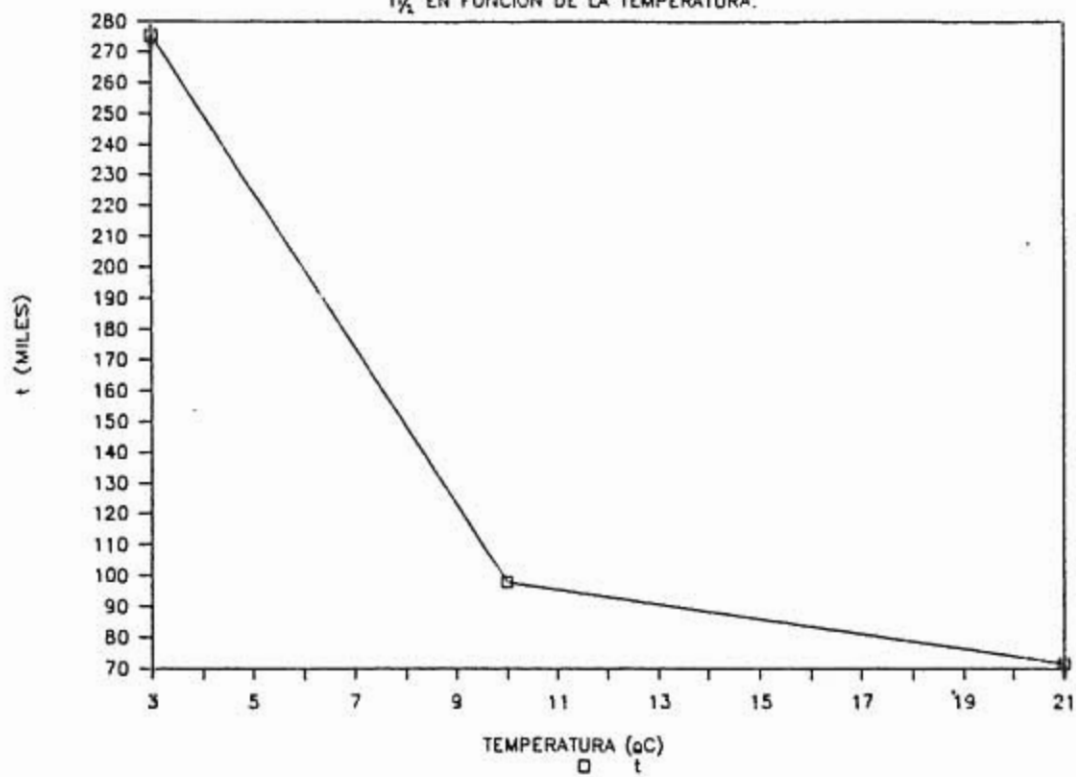
Von Elbe reporta haber obtenido una $E_a = 12.5 \text{ Kcal/mol}$ para un extracto de betanina puro; Huang (8,9) obtuvo un valor de $E_a = 17.6 \text{ Kcal/mol}$ también para betanina pura. (Los dos valores para soluciones de betanina a un pH=5).

La diferencia en los valores de energía de activación reportados bibliográficamente y el obtenido en el presente estudio se atribuye a que los primeros se refieren a un extracto puro, en cambio, el otro valor se refiere a una mezcla de betacianinas y betaxantinas lo cual, resta estabilidad a la solución y por lo tanto aumenta la energía de activación.

Es claro el efecto que tiene la temperatura sobre los pigmentos. Por lo tanto es importante tratar de evitar la aplicación de los mismos en productos que requieran un procesamiento a altas temperaturas.

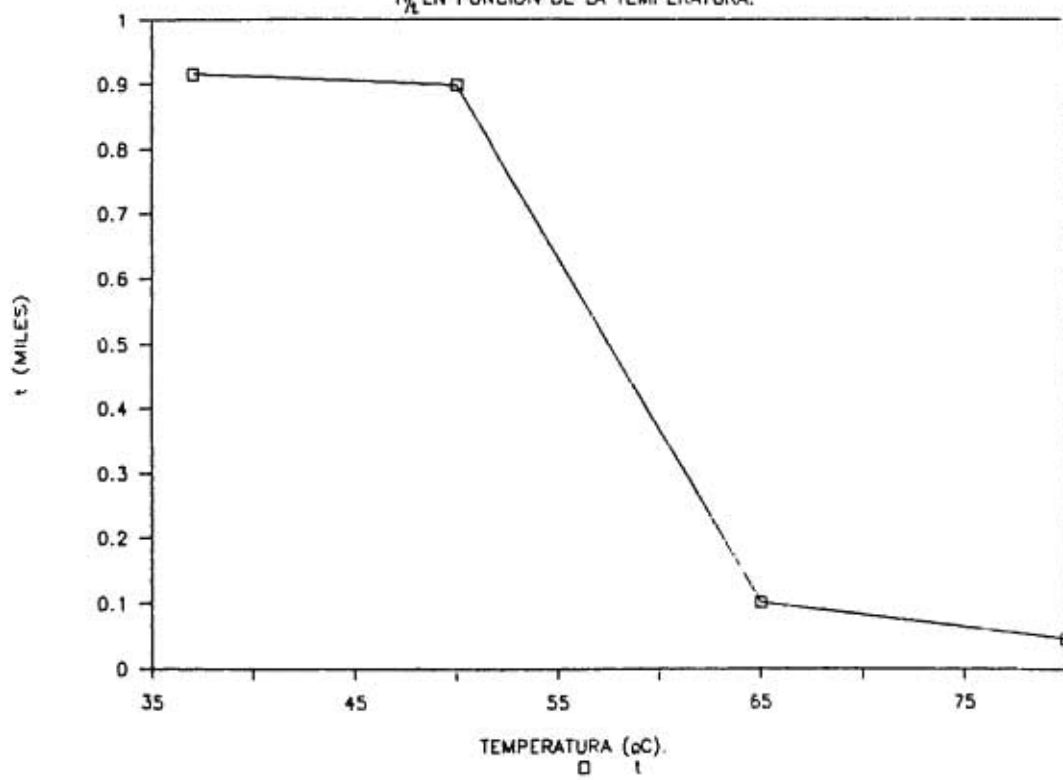
GRAFICA 6

$T_{1/2}$ EN FUNCION DE LA TEMPERATURA.



GRAFICA 7

$T_{\%}$ EN FUNCION DE LA TEMPERATURA.



c) Efecto de Oxígeno.
Nitrógeno, Luz y Oscuridad.

Los comportamientos que mostraron las soluciones de betabel para cada condición descrita en función del tiempo se muestran en las siguientes tablas:

TABLA 26.

EFFECTO DE OXIGENO-LUZ SOBRE EL % DE PIGMENTO REMANENTE

REMANENTE (%)	TIEMPO (MIN)
100.00	0
97.22	5
94.44	15
91.66	30
88.88	50
88.88	80
83.33	125
78.88	185
68.88	245
66.66	305

TABLA 27.

EFFECTO DE OXIGENO-OSCURIDAD SOBRE EL % DE PIGMENTO REMANENTE

REMANENTE (%)	TIEMPO (MIN)
100.00	0
78.94	5760
71.57	10080
61.05	14400

TABLA 28.

EFEECTO DE NITROGENO-LUZ SOBRE EL % DE PIGMENTO REMANENTE

REMANENTE (%)	TIEMPO (MIN)
100.00	0
75.00	1440
49.00	2880
45.00	4320

TABLA 29.

EFEECTO DE NITROGENO-OSCURIDAD SOBRE EL % DE PIGMENTO REMANENTE

REMANENTE (%)	TIEMPO (MIN)
100.00	0
75.55	1440
60.00	2880
53.33	4320

El color que presentaron las muestras que se sometieron al efecto de la luz tuvieron un cambio en la tonalidad de rojo a un naranja pardo muy opáco. En contraste con las muestras que se sometieron al efecto de altas temperaturas éstas nunca llegaron a una tonalidad amarillo pálido. El efecto de la luz sobre los pigmentos no conduce a una degradación total, lo cual se atribuye a que en las primeras fases de formación de las betalainas ésta favorece la producción de las mismas por lo que posteriormente no hay gran sensibilidad de dichos pigmentos a la luz.

Nuevamente es importante relacionar el porcentaje de pigmentos presentes con el color; en la tabla 26, para el efecto de oxígeno-luz, se tiene un 66.66% de pigmentos, sin embargo, esta degradación se dió tan solo en 305 minutos y el color y apariencia de la solución era rojo-naranja opáco muy turbio. En cambio para la condición de oxígeno-oscuridad (tabla 27) el pigmento permaneció en óptimas condiciones 14400 min y la solución no presentó turbidez alguna.

En cuanto a las condiciones de nitrógeno, tanto para luz como para oscuridad, no se dieron cambios extremos entre sí, aunque se obtuvo un mejor efecto con la oscuridad tanto para el porcentaje de pigmentos como para el color de la solución.

En 1978 Von Elbe reporta haber obtenido una degradación del 15% en presencia de oxígeno y, en presencia de oxígeno-luz de un 30%, lo cual es semejante a la experimentación realizada en donde las soluciones de betabel que presentaron mejor aspecto fueron las que correspondían a las condiciones de oscuridad.

Los resultados que se obtuvieron de acuerdo a un modelo cinético de primer orden se presentan a continuación: (Ver gráficas 8,9,10 y 11 también).

TABLA 30.
CONSTANTES CINÉTICAS Y VALOR D PARA EL PIGMENTO EN FUNCIÓN DE OXÍGENO, NITRÓGENO, LUZ Y OSCURIDAD.

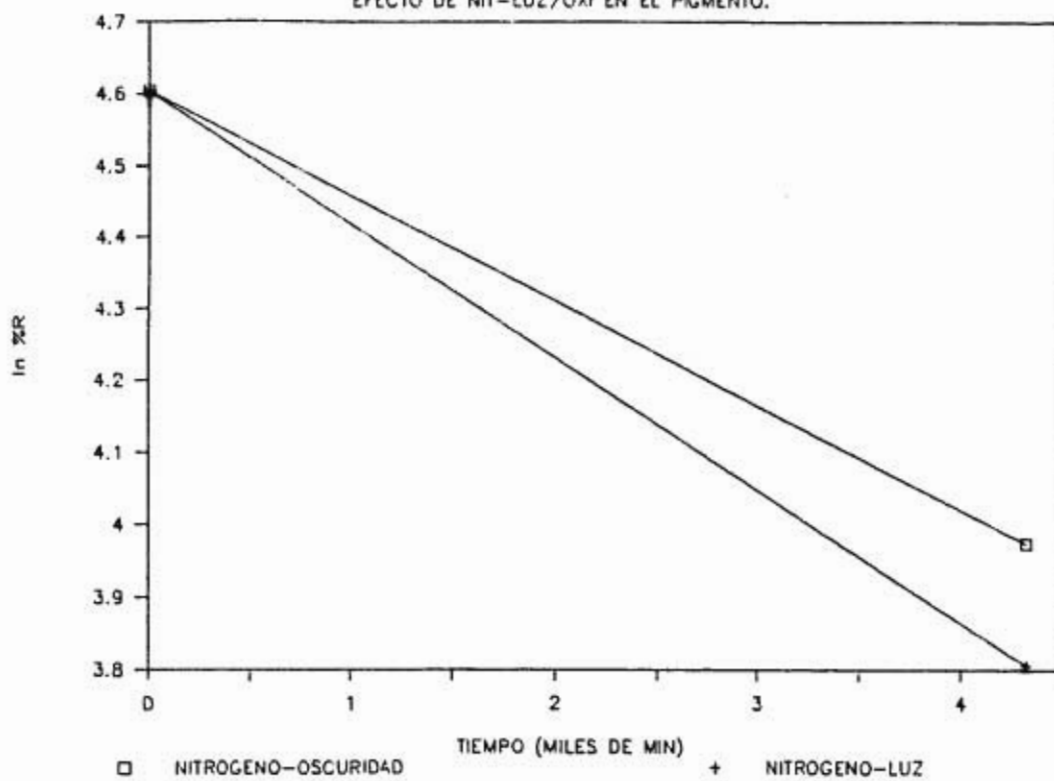
CONDICION	r	r ²	K	t _{1/2}	D
OXI-OSC	-0.9946	0.9893	3.3X10 ⁻³	71478.01	29934.18
OXI-LUZ	-0.9891	0.9764	1.3X10 ⁻³	1875.23	784.30
NIT-OSC	-0.9851	0.9705	1.5X10 ⁻⁴	16281.63	6803.80
NIT-LUZ	-0.9738	0.9482	1.9X10 ⁻⁴	12202.46	5104.22

- r = Coeficiente de correlación. r² = Coeficiente de determinación.
 K = Constante de velocidad de degradación (min⁻¹)
 D = Tiempo de reducción decimal requerido para destruir el 90% de los pigmentos presentes.
 t_{1/2} = Tiempo de vida media (min).

De acuerdo a los resultados obtenidos y a las observaciones realizadas se puede inferir que el factor de mayor estabilidad para estos pigmentos fue la oscuridad. Esto se puede corroborar con los valores de tiempos de vida media y el valor D, los cuales fueron extremadamente altos para las condiciones de oxígeno-oscuridad. Igualmente podemos advertir que la combinación de

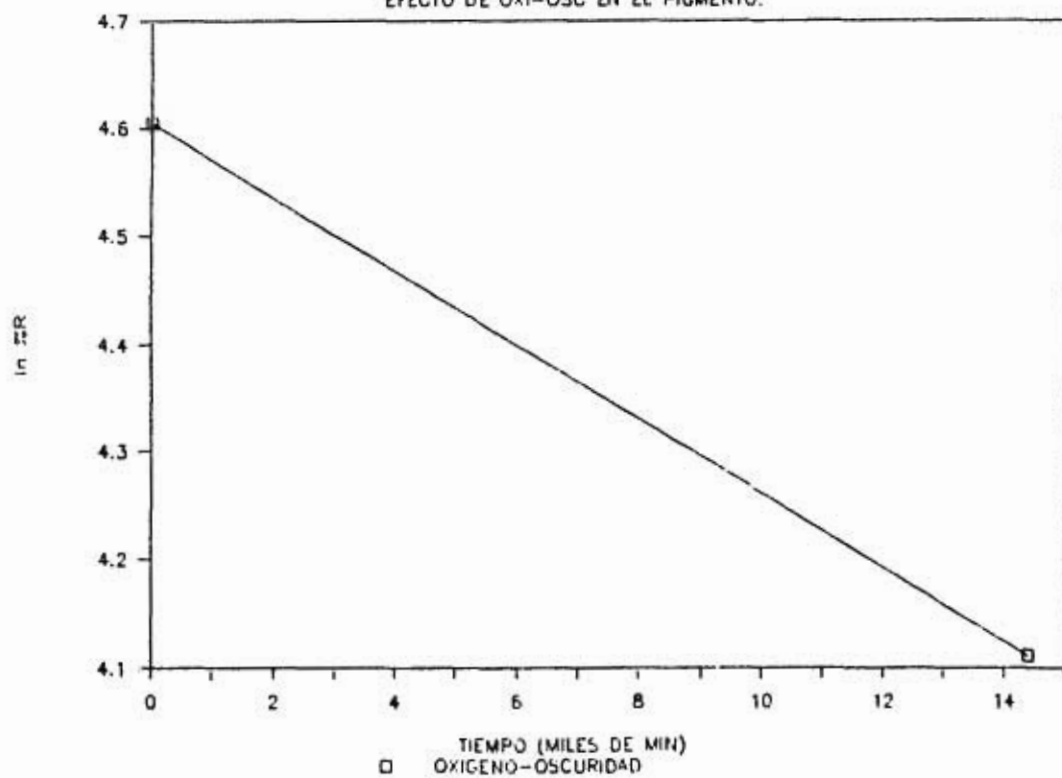
GRAFICA 8

EFECTO DE NIT-LUZ/OXI EN EL PIGMENTO.

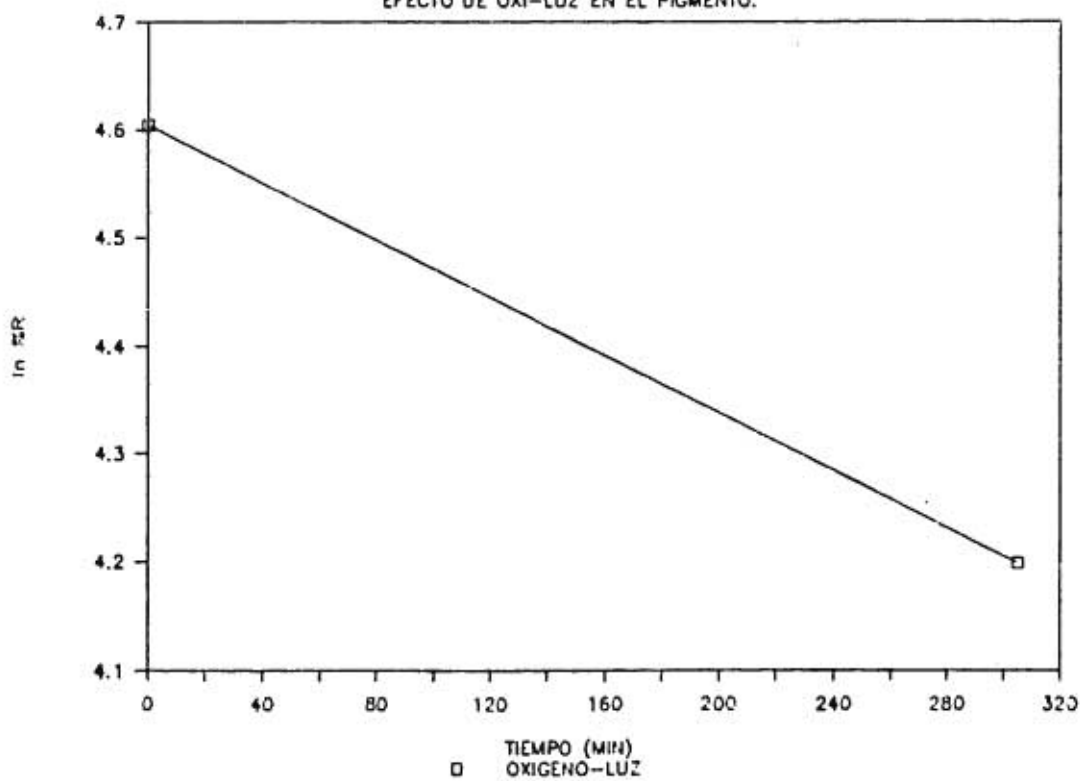


GRAFICA 9.

EFFECTO DE OXI-OSC EN EL PIGMENTO.

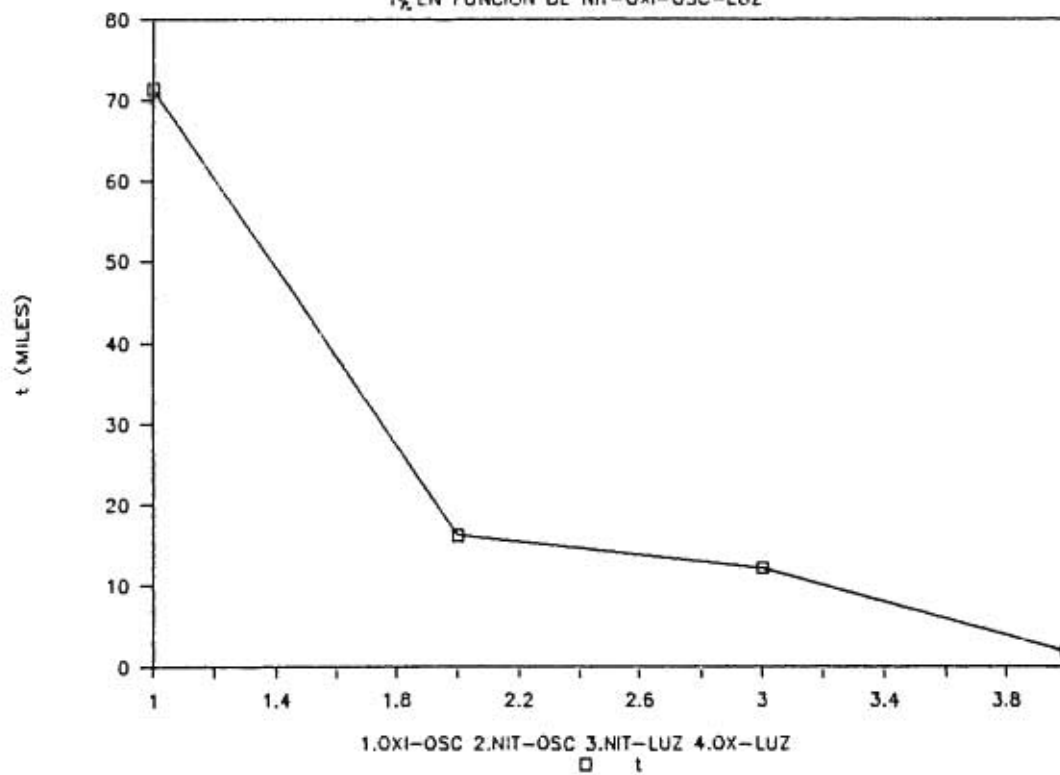


GRAFICA 10
EFECTO DE OXI-LUZ EN EL PIGMENTO.



GRAFICA 11

T₂ EN FUNCION DE NIT-OXI-OSC-LUZ



oxígeno-luz es sumamente dañina para la estabilidad y color del pigmento.

Al comparar las gráficas 8,9 y 10 podemos corroborar que el mayor contenido de pigmento corresponde para la condición de oxígeno-oscuridad. Los efectos de nitrógeno son similares aunque de todas formas se puede apreciar el beneficio que causa la presencia de oscuridad en la cantidad de pigmentos.

Afirmando este comportamiento la gráfica 11 muestra la gran diferencia en los tiempos de vida media. Mientras que para oxígeno-oscuridad el tiempo de vida media sobrepasa 70000 minutos, para las demás condiciones es menor de 16500 minutos, siendo grande la disparidad entre una y otra condición. Este tipo de tendencia muestra que condiciones de luz-oxígeno aceleran el proceso de degradación del pigmento.

La creación de una atmósfera limitada de oxígeno (adición de nitrógeno) amortiguó el efecto de la luz no obteniéndose así constantes de velocidad de degradación tan altas como para el efecto de oxígeno-luz, lo cual se ve reflejado en los valores D que son para las condiciones de nitrógeno del orden de 5000 a 7000 min, es decir, presentan sensibilidad semejante al efecto de la degradación.

Aunque la concentración de pigmentos para las condiciones anteriormente mencionadas no se puede considerar bajo, el color de las muestras era muy ópaco y con marcadas tonalidades naranja oscuras. Es importante mencionar que esto se puede adjudicar a la mezcla de pigmentos presentes, betacianinas (rojos) y betaxantinas (amarillos).

d) Efecto de Aditivos Químicos.

El comportamiento que tuvieron los pigmentos en relación al tiempo, bajo el efecto de aditivos químicos se puede apreciar en las siguientes tablas:

TABLA 31.

EFEECTO DE EDTA SOBRE EL % DE PIGMENTO REMANENTE

REMANENTE (%)	TIEMPO (MIN)
100.00	0
80.00	1440
67.50	2880
60.00	4320
53.75	5760
46.25	10080

TABLA 32.

EFEECTO DE AC. ASCORBICO SOBRE EL % DE PIGMENTO REMANENTE

REMANENTE (%)	TIEMPO (MIN)
100.00	0
87.80	1440
91.46	2880
85.36	4320
60.97	5760

TABLA 33.

EFEECTO DE AC. ACETICO SOBRE EL % DE PIGMENTO REMANENTE

REMANENTE (%)	TIEMPO (MIN)
100.00	0
82.66	1440
80.00	2880
74.66	4320
66.66	5760
65.33	10080
62.66	11520
56.00	12960
53.33	14400
53.33	15840
53.33	20160

TABLA 34.

EFFECTO DE AC. LACTICO SOBRE EL % DE PIGMENTO REMANENTE

REMANENTE (%)	TIEMPO (MIN)
100.00	0
90.66	1440
76.00	5760
80.00	7200
77.33	8640
77.33	10080

Comparando el efecto de las sales de EDTA, ácido ascórbico, ácido acético y ácido láctico sobre el pigmento, se puede observar que a un mismo tiempo (5760 min) ha habido cambios en la tonalidad, dependiendo del aditivo adicionado. Tal es el caso de las sales de EDTA y del ác. acético que de un rojo brillante y transparente cambian a un rojo pálido; la degradación del pigmento es mayor en presencia de EDTA ya que a un tiempo de 5760 min presenta un % de pigmentos de 53.75%, mientras que el ác. acético presenta un contenido de 66.66%. Por otra parte, el ác. acético presenta una mayor protección en cuanto a color, probablemente por las betaxantinas contenidas en el polvo de betabel, ya que como se observa en la tabla 33 es el que presenta un mayor tiempo de duración con un % de pigmentos mayor que las sales de EDTA.

Las soluciones que se sometieron al efecto del ác. ascórbico aunque al tiempo de 5760 min presentaron buena cantidad de pigmentos (60.97%), sus características de brillantez y transparencia no eran buenas. Sin embargo, la solución que se sometió al efecto de ác. láctico a un tiempo de 10080 min presentó una cantidad de 77.33% de pigmentos; su color disminuyó en intensidad pero las características de transparencia y brillantez eran muy semejantes a las de la solución inicial.

Las velocidades de degradación de las betalainas en presencia de los aditivos mencionados, se muestran en la tabla 35 y en las gráficas 12, 13 y 14.

TABLA 35

CONSTANTES CINÉTICAS Y VALOR D PARA EL PIGMENTO EN FUNCIÓN DE ADITIVOS QUÍMICOS.

ADITIVO	r	r ²	K	t _{1/2}	D
EDTA	-0.9502	0.9030	7.4X10 ⁻³	32567.5	13512.8
AC ASCORBICO	-0.8618	0.7427	6.33X10 ⁻³	37686.6	15805.1
AC ACETICO	-0.9432	0.8826	3.01X10 ⁻³	80103.5	33177.3
AC LACTICO	-0.9045	0.8182	2.50X10 ⁻³	95707.3	39960.2

r = Coeficiente de correlación.

r² = Coeficiente de determinación.

K = Constante de velocidad de degradación (min⁻¹).

D = Tiempo de reducción decimal para destruir el 90% de los pigmentos presentes (min).

t_{1/2} = Tiempo de vida media (min).

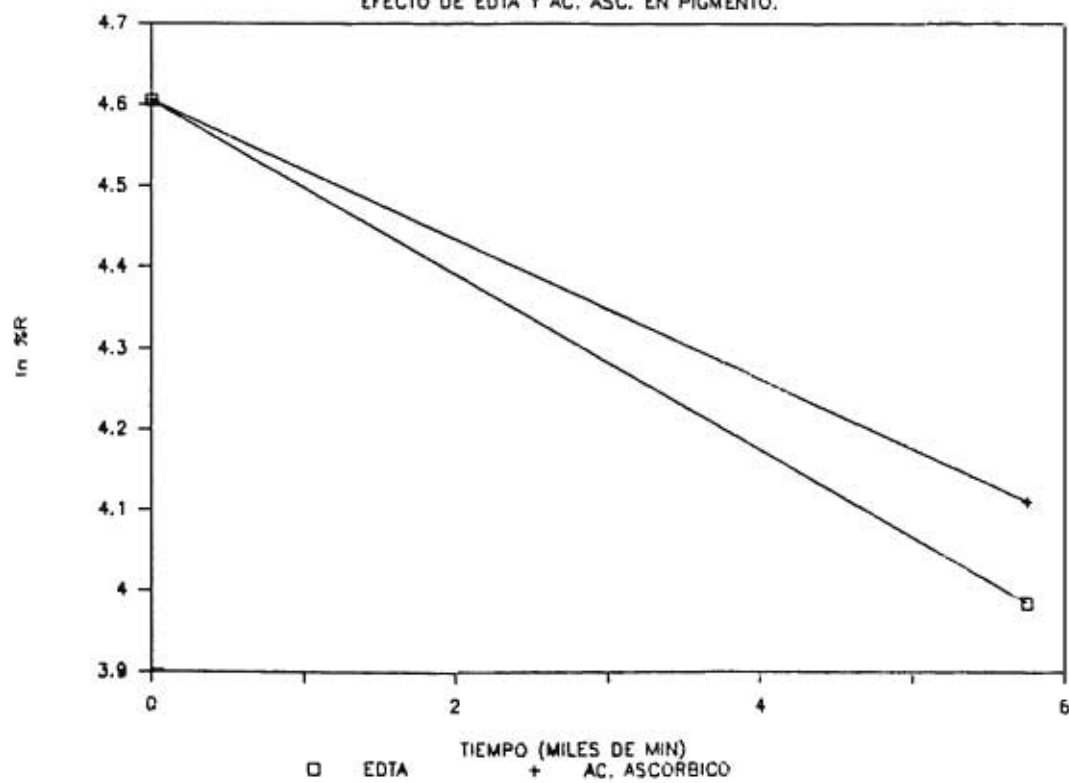
Como se puede observar en la gráfica 12 el efecto que tienen las sales de EDTA y el ác. ascórbico sobre las betalainas es muy semejante, afectando más la estabilidad de dichos pigmentos las sales de EDTA; mientras que en la gráfica 13 se puede observar que el aditivo con el cual es más estable el polvo de betabel es con el ácido láctico con un valor de D=39960.23 min, aunque la estabilidad que presenta con el ác. acético también es buena con un valor de D= 33177.36 min.

En la gráfica 14 se puede observar que el ácido láctico presenta tiempos de vida media mayores (95707.34 min) a los demás aditivos utilizados, siendo las sales de EDTA y el ác. ascórbico los que presentan menores tiempos de vida media (32567.5 min y 37686.65 min respectivamente). Por lo que los pigmentos presentaron una mayor estabilidad ante el ácido láctico.

De acuerdo a estos resultados se concluye que el ác. láctico es el aditivo químico que mas estabilidad le confiere al polvo de betabel.

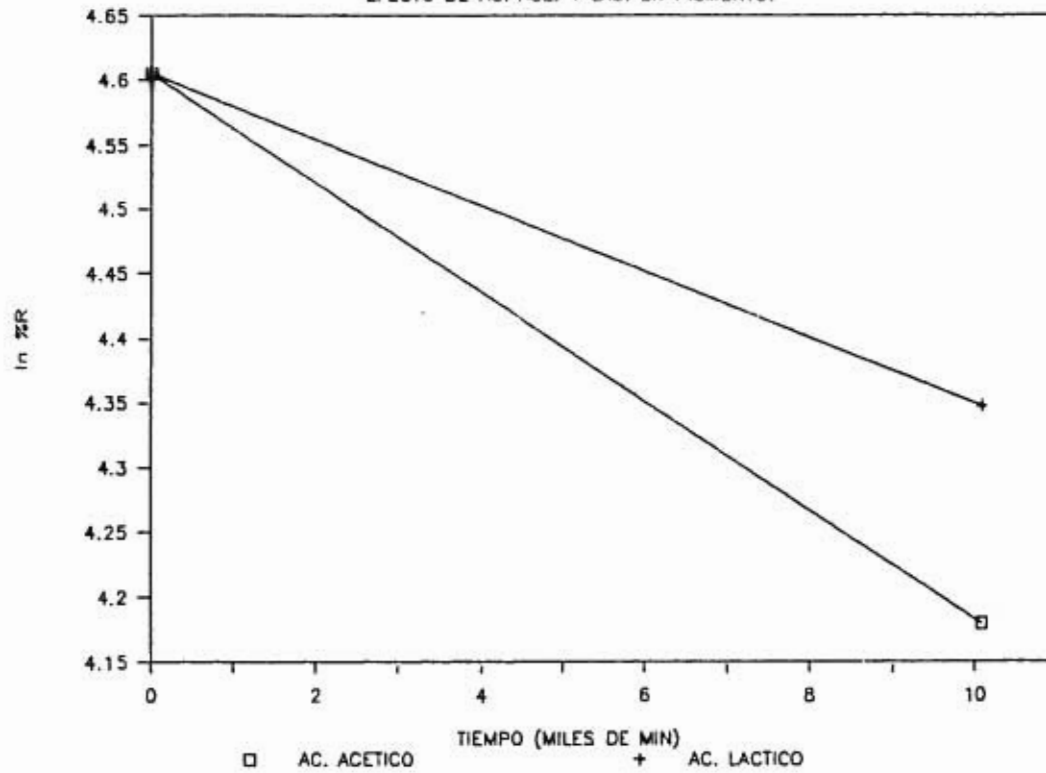
GRAFICA 12

EFFECTO DE EDTA Y AC. ASC. EN PIGMENTO.



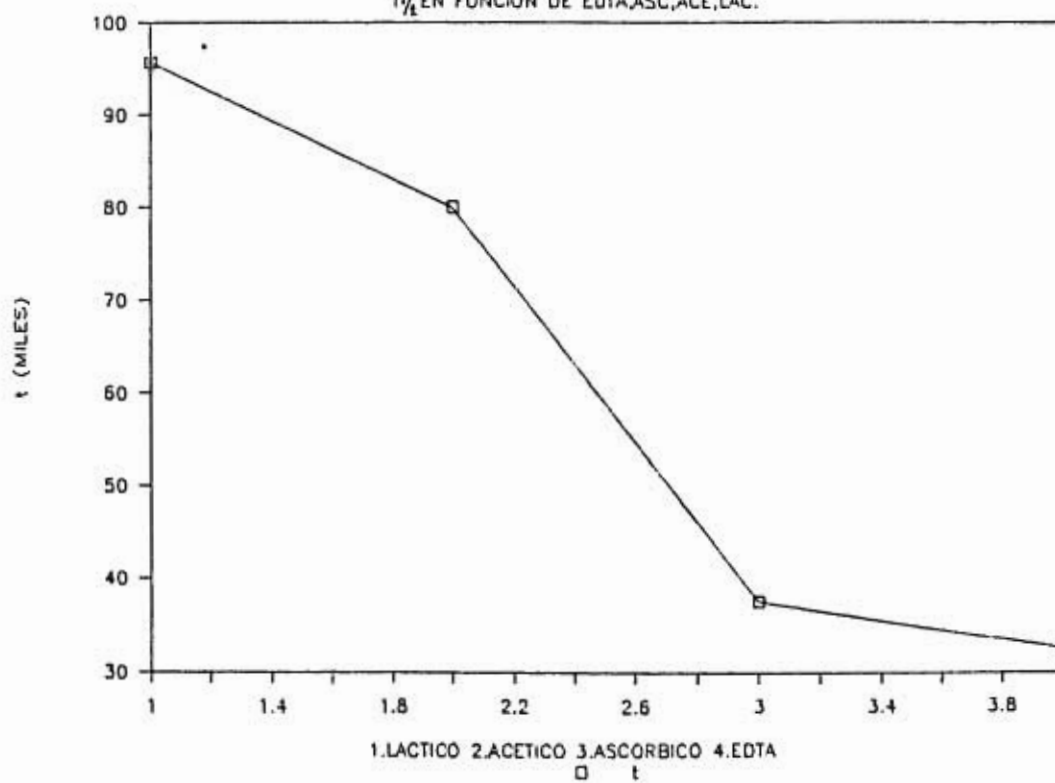
GRAFICA 13

EFFECTO DE AC. ACE. Y LAC. EN PIGMENTO.



GRAFICA 14

$T_{1/2}$ EN FUNCION DE EDTA, ASC, ACE, LAC.



4. APLICACION EN ALIMENTOS.

Los resultados obtenidos de la experimentación realizada reportaron que la estabilidad del polvo de betabel se ve afectada principalmente por altas temperaturas, pH's ácidos y efecto conjunto de oxígeno-luz. Los productos en los que se puede aplicar el polvo de betabel son diversos (productos lácteos, bebidas, sopas, jaleas, helados, etc.; sin embargo, la investigación a este respecto se enfocó hacia el área de confitería, seleccionando así productos para aplicación las gomitas y gelatinas.

Las formulaciones que se siguieron para la elaboración de las gelatinas y gomitas se muestran en las tablas 36 y 37:

TABLA 36.

FORMULACION PARA GELATINAS SABOR FRESA Y FRAMBUESA

INGREDIENTE	CANTIDAD	
GRENETINA	2.25	gr
AC. CITRICO	0.25	gr
BENZOATO DE SODIO	0.025	gr
AZUCAR	18.68	gr
SABORIZANTE ARTIFICIAL	0.05	gr
AGUA	101.5 ml fresa	62.3 ml frambuesa
COLORANTE DE BETABEL LIQUIDO (1.5%)	32.5 ml fresa	71.6 ml frambuesa

NOTA: Las cantidades estan referidas para obtener 134 ml de gelatina. El saborizante cambia según el producto a elaborar. El colorante de betabel es el ultimo ingrediente que se agrega a la mezcla cuando ésta se encuentra a 32º-37ºC.

TABLA 37.

FORMULACION PARA GOMITAS SABOR FRESA.

INGREDIENTE	CANTIDAD
1ª MEZCLA:	
AZUCAR	50.0 gr
AGUA	16.0 gr
GLUCOSA	25.0 gr
2ª MEZCLA:	
GRENETINA	10.5 gr
AGUA	14.0 gr
BENZOATO DE SODIO	0.025 gr
SABORIZANTE (FRESA)	0.075 gr
COLORANTE DE BETABEL LIQUIDO (1.5%)	12.0 ml

NOTA: Fórmula base para obtener 125 gr. de pto. El colorante de betabel se agrega cuando la mezcla alcanza una temperatura aproximada de 329-359C.

Tomando en cuenta estas formulaciones se elaboraron los productos mencionados y se realizaron las correspondientes evaluaciones sensoriales, de las que se obtuvieron los siguientes resultados:

TABLA 38.

RESULTADOS DE LAS EVALUACIONES SENSORIALES.

PRUEBA	RESULTADOS
PREFERENCIA ADULTOS	12 jueces, 6 muestras. $\alpha = 5\%$ No hay diferencia entre muestras.
NIÑOS	14 jueces, 6 muestras. $\alpha = 5\%$ Diferencia significativa para gelatina de frambuesa elaborada con colorante de betabel y para marca comercial # 2.
DUO-TRIO DIFERENCIA	10 jueces, 3 repeticiones. G.l. = 1. $\alpha = 5\%$. No hay diferencia significativa ni en gelatinas comerciales ni en las que contienen polvo de betabel.
NIVEL DE AGRADO	8 jueces, 2 muestras. G.l. = 7. $\alpha = 5\%$ No hay diferencia significativa entre muestras.
PREFERENCIA	10 jueces, 3 muestras. $\alpha = 5\%$. No hay diferencia significativa entre muestras.

Ya que en la prueba de preferencia que se aplicó a la población adulta no se encontró diferencia estadística, se tomaron en cuenta las observaciones que emitió cada juez en la prueba y sus calificaciones individuales, determinándose así el siguiente orden de preferencia:

1. Gelatina marca comercial # 1 sabor frambuesa.
2. Gelatina c/colorante de betabel sabor frambuesa.
3. Gelatina marca comercial # 2 sabor frambuesa.
4. Gelatina marca comercial # 3 sabor fresa.
5. Gelatina marca comercial # 1 sabor cereza.
6. Gelatina c/colorante de betabel sabor fresa.

De las observaciones de los jueces se notó una tendencia general hacia la brillantez de las gelatinas marca comercial # 1 sabor frambuesa, gelatina c/colorante de betabel sabor fresa y frambuesa; haciendo énfasis en el buen aspecto que tenían en cuanto a tonalidad, brillantez y transparencia del color. También se obtuvieron opiniones generales de los jueces de que el color de la muestra de gelatina con colorante de betabel sabor fresa era demasiado pálida aunque presentaba buena brillantez.

De acuerdo a las observaciones y a las calificaciones obtenidas de la prueba se determinó que el consumidor adulto prefiere colores intensos en este tipo de productos.

Los resultados también mostraron que la gelatina sabor frambuesa elaborada con el colorante de betabel, compite fuerte con la marca comercial # 1 del mismo sabor, ya que la primera se colocó en el segundo lugar de preferencia.

Sin embargo, para el grupo de panelistas conformado por los niños, la gelatina con el colorante de betabel sabor frambuesa se colocó en el primer lugar de preferencia, seguida por la marca comercial # 2 sabor frambuesa; confirmandose así también el gusto de los niños por los colores intensos en las gelatinas.

Es importante aclarar, que para la prueba de diferencia (duo-trio) se trabajaron dos lotes de gelatinas: uno formado por gelatinas marca comercial # 1 sabor frambuesa, y el otro por gelatinas sabor frambuesa elaboradas con colorante de betabel. Así mismo, hay que señalar que se eligió una semana de almacenamiento en esta prueba debido a que para este tipo de

productos la vida de anaquel comunmente no excede de dicho tiempo.

Debido a que en ninguno de los dos grupos se encontró diferencia significativa, se puede establecer que el color en las gelatinas no cambia y éste permanece constante en el producto. Además de no haber cambios en el color, se verificó que no hubo cambios en la transparencia y brillantez de las muestras.

Para la prueba de nivel de agrado se trabajó con gelatinas elaboradas en el laboratorio, una coloreada artificialmente (rojo # 40) y la otra coloreada con colorante de betabel. De acuerdo a los resultados de dicha prueba se determinó que no existe diferencia significativa entre una y otra. Se observa que los dos productos agradaron al panel de jueces y a la vez, que los pigmentos integrales del polvo de betabel no afectan el sabor del producto.

De las muestras que se expusieron a condiciones ambientales, la gelatina comercial no presentó cambio alguno en el color, mientras que la gelatina elaborada con el polvo de betabel fue perdiendo color hasta quedar de una tonalidad amarillo pálido (en un período de 7 días); lo cual nos confirma que la combinación de luz-oxígeno y la ausencia de bajas temperaturas degradan al pigmento rápidamente, sin embargo, esto puede ser poco importante si se considera que este tipo de producto a nivel casero siempre se guarda a bajas temperaturas. La limitación de uso en gelatinas sería en aquellas que se destinan para venta, las cuales se exponen a la luz y pueden o no estar refrigeradas.

En la prueba de preferencia que se aplicó a las gomitas se observó que de acuerdo a las determinaciones individuales de los jueces (debido a que no se encontró diferencia significativa entre muestras) que atrajo mucho el aspecto de la gomita elaborada con el polvo de betabel ya que esta mostraba una mayor brillantez que las otras dos gomitas comerciales.

Las gomitas que se expusieron a condiciones ambientales (luz-oxígeno, temp. de aproximadamente 28°C) a diferencia de las gelatinas, no sufrieron degradación alguna en el color durante un período de 60 días. Esto nos lleva a inferir que las betalainas presentes en el polvo de betabel se ven más afectadas por la actividad de agua que por las condiciones anteriormente mencionadas; corroborándose esta situación con la prueba que se realizó en las gelatinas a las mismas condiciones, debido a que la principal diferencia entre estos dos productos es la actividad

de agua, lo cual indica que este puede ser un punto importante a estudiar.

De los productos estudiados las gomitas presentaron muy buena alternativa de aplicación, aunque las gelatinas con un buen manejo en cuanto a condiciones de almacenamiento representan una buena opción también.

CAPITULO V

CONCLUSIONES

* La mezcla de pigmentos contenida en el polvo de betabel presenta su máxima absorbancia a una longitud de onda de 480 nm.

* Para una mayor estabilidad de las betalainas debe de evitarse la aplicación de éstas en pH muy ácidos y alcalinos, ya que presentan su mayor estabilidad en pH=5 con ácido cítrico a una concentración de 120 ppm.

* El estudio de la cinética de degradación del polvo de betabel dió como resultado que éste sigue un orden de reacción de primer orden.

* Aun cuando los tiempos de vida media de los pigmentos fueron altos, éstos demostraron ser altamente termolábiles por lo que se concluye que se mejor aplicación se presenta a temperaturas entre 3 y 37°C.

* Debido a que el polvo integral de betabel está compuesto por la mezcla de pigmentos betacianinas y betaxantinas, la energía de activación obtenida es mayor a la reportada bibliográficamente para extractos puros.

* Contrariamente a lo reportado en la literatura la creación de una atmósfera limitada de oxígeno no aumentó la estabilidad de las betalainas; ya que el efecto de la luz resultó altamente perjudicial por lo que su máxima estabilidad se presenta en condiciones de oxígeno-oscuridad.

* El ác. láctico proporcionó mayor estabilidad a los pigmentos del polvo de betabel ya que éste demostró tener mayor capacidad de retención de color y además los tiempos de vida media fueron los más altos con este aditivo.

* Sales de EDTA y Ac. ascórbico no resultaron tener un efecto significativo en la estabilidad de las betalainas.

* Es posible elaborar productos de confitería con el pigmento integral de betabel con buena aceptación.

* Los pigmentos integrales de polvo de betabel no afectan el sabor de productos tales como gelatinas y gomitas.

RECOMENDACIONES

* Dada la situación por la que atraviesa la industria alimentaria en cuanto a restricción de colorantes sintéticos, principalmente rojos, es conveniente el desarrollo de nuevos métodos de extracción y purificación de pigmentos naturales que sean costeables y de gran utilidad para los fines de la misma.

* Ya que los pigmentos contenidos en el polvo de betabel presentaron buenas propiedades como colorantes alimentarios es conveniente intensificar los estudios de extracción, estabilidad, forma de aplicación y su potencial de uso en alimentos.

* Debido a que la aplicación de betalaínas resultó mejor en gomitas que en gelatinas se recomienda efectuar el estudio del efecto de la Aw en dichos pigmentos.

* Es importante evaluar la estabilidad de los pigmentos en una mayor gama de productos alimenticios como encurtidos y derivados lácteos.

CAPITULO VI

REFERENCIAS

- 1.- Attoe E.L., Von Elbe J.H., "OXYGEN INVOLVEMENT IN BETANINE DEGRADATION", Journal of Food Science, Vol. 50, 1985, p 108
- 2.- Bhalkar Sheshank Dubash, "BEET PIGMENTS AND FOOD COLOURS", Food and Fermentation Technology, University of Bombay, Vol 38, # 1, enero-febrero, 1984, p 87.
- 3.- Bilyk A., "EXTRACTIVE FRACTIONATION OF BETALAINS", Journal of Food Science, Vol 44, 1979.
- 4.- Bilyk A., Myron A., "STABILIZATION OF RED PIGMENTS WITH ISOASCORBIC ACID", Journal of Food Science, Vol. 46, 1981, p 1816.
- 5.- Brennan J.G., "OPERACIONES DE LA INGENIERIA DE LOS ALIMENTOS", Ed. Acríbia, Zaragoza España, 1970.
- 6.- Code of Federal Regulations, "FOOD AND DRUGS", Parte 1 a 99, Washington, 1980.
- 7.- Cohen E., Saguy I., "EFFECT OF WATER ACTIVITY AND MOISTURE CONTENT ON THE STABILITY OF BEET POWDER PIGMENTS", Journal of Food Science, Vol. 48, 1983, p 704.
- 8.- Chichester C.O., "ADVANCES IN FOOD RESEARCH", Vol 32, Ed. Academic Press Inc., 1988.
- 9.- Daly Loma, Lyons Howard, "COLOURS IN FOCUS", Food Processing, August 1989, p 23.
- 10.- Driver M.C., Francis M.J., "STABILITY OF PHYTOLACCANIN, BETANIN AND FD&C RED #2 IN DESSERT GELS", Journal of Food Science, Vol. 44, # 2, 1979, p 518.
- 11.- Dhillon and Maurer, "EVALUATION OF BETALAIN PIGMENTS AS COLORANTS IN TURKEY SUMMER SAUSAGES", Department of Poultry Sciences, University of Wisconsin, Diciembre, 1974.
- 12.- "DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACION", Aditivos Alimentarios, México, Enero 1988.
- 13.- Duxburu D. Dean, "REPLACEMENT COLOR AND BLENDS FOR BANNED FD&C #3 LAKE", Food Processing, May 1990, p 63.
- 14.- Engel C., "NATURAL COLOURS, THEIR STABILITY AND APPLICATION IN FOOD", Scientific and Technical Surveys, November, 1979.
- 15.- Fersini Antonio, "HORTICULTURA PRACTICA", Ed. Diana, México D.F., 1976, p 449.
- 16.- Harnet L. Donald, "INTRODUCCION AL ANALISIS ESTADISTICO",

Cap. 11, Ed. Sitsa, México, 1987.

17.- Hill G. Charles, "KINETIC DATA: GENERATION, INTERPRETATION AND USE", Food Technology, February, 1980, p 56.

18.- Huang A.S., Von Elbe J.H., "EFFECT OF PH ON THE DEGRADATION AND REGENERATION OF BETANINE", Journal of Food Science, Vol 52, # 6, 1987, p 1689.

19.- Huang A.S., "KINETICS OF THE DEGRADATION AND REGENERATION OF BETANINE", Journal of Food Science, Vol 50, 1985, p 1115.

20.- Huldah Brancfort, "INTRODUCCION A LA BIOESTADISTICA", Ed. Universal, Buenos Aires Argentina, 1960.

21.- Institute of Food Technologists Expert Panel on Food Safety and Nutrition, "FOOD COLORS", Food Technology, July 1986, p 49.

22.- Josse René, "HOW TO USE NATURAL COLORS", Food Engineering, October, 1987, p 49.

23.- Kearsley M.W., "STABILITY AND USE OF NATURAL COLORS IN FOODS", Journal of Food Technology, Vol. 15, 1980, p 501.

24.- Knewstubb Conrawd, "COLOURING, WHATS COME NATURALLY...", Food Manufacturer, January 1990, p 25.

25.- Labuza P.T., "ENTHALPY/ENTROPY COMPENSATION IN FOOD REACTIONS", Food Technology, February, 1980, p 67.

26.- Labuza P.T., "THEORY AND APPLICATIONS OF ARRHENIUS KINETICS TO THE PREDICTION OF NUTRIENT LOSSES IN FOODS", Food Technology, October, 1982, p 66.

27.- Lenz M.K. and D.B. Lund, "EXPERIMENTAL PROCEDURES FOR DETERMINING DESTRUCTION KINETICS OF FOOD COMPONENTS", Food Technology, February, 1980.

28.- Lincoln L. Chao, "INTRODUCCION A LA ESTADISTICA", Ed. Continental S.A., México, 1985.

29.- Lopez Briones Ma. Guadalupe, "OBTENCION DE COLORANTES ROJOS DE ORIGEN NATURAL A PARTIR DEL BETABEL. ESTUDIO AGROQUIMICO", Tesis, Facultad de Química, 1985.

30.- Mabry T.J., Taylor Ann., "THE BETACYANINS AND THEIR DISTRIBUTION", Phytochemistry. Vol 2, p 61, 1968.

31.- Main and Von Elbe, "BETALAINS AS POSSIBLE FOOD COLOURANTS OF MEAT SUBSTITUTES", Cereal Science Today, 1973, p 263.

32.- Maroto Borrego J., "HORTICULTURA HERBACEA ESPECIAL", Ediciones Mundi-Pressa, 28 edición, Madrid, 1986, p 61.

33.- Meggos N. Harry, "COLORS-KEY FOOD INGREDIENTS", Food Technology, January 1984, p 70.

- 34.- Nájera Gomez Amado, "LOS COLORANTES NATURALES EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA", Tesis, Facultad de Química, UNAM, 1988.
- 35.- National Academic of Sciences, "FOOD COLORS", Washington D.C., 1971, USA.
- 36.- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación, "LAS SEMILLAS AGRICOLAS Y HORTICOLAS", 1981, p 474.
- 37.- Pantastico E.R., "POSHARVEST PHYSIOLOGY HANDLING AND UTILIZATION OF TROPICAL AND SUBTROPICAL FRUITS AND VEGETABLES", Avi Publishing Co. Inc., Westport Connecticut, 1975.
- 38.- Pash J.H., Von Elbe J.H., "SENSORY EVALUATION OF BETANINE AND CONCENTRATED BEET JUICE", Journal of Food Science, Vol 43, # 5, 1978, p 1625.
- 39.- Pash J.H., Von Elbe J.H., "BETANINE STABILITY IN BUFFERED SOLUTIONS CONTAINING ORGANIC ACIDS, METAL CATIONS, ANTIOXIDANTS AND SEQUESTRANTS", Journal of Food Science, Vol. 44, # 1, 1979, p 72.
- 40.- Pash J.H., Von Elbe J.H., "BETALAINS AS NATURAL FOOD COLORANTS", Food Product Development, November, 1975, p 41.
- 41.- Pedrero L Daniel, "EVALUACION SENSORIAL DE LOS ALIMENTOS", Ed Alhambra Mexicana S.A. de C.V., 1989.
- 42.- Peterson R.G., Joslyn M.A., "THE RED PIGMENT OF THE ROOT OF THE BEET (BETA VULGARIS) AS A PYRROLE COMPOUND", Department of Food Technology, University of California, Berkeley, p 429.
- 43.- Piattelli Mario, "PIGMENTS OF CENTROSPERMAE; DISTRIBUTION OF BETACYANINS", Phytochemistry, Vol 3, 1964, p 547.
- 44.- Piattelli Mario, "THE BETALAINS; STRUCTURE, BIOSYNTHESIS AND CHEMICAL TAXONOMY", Biochemistry of Plants, Vol. 7, Cap. 19, Academic Press, 1981, p 557.
- 45.- Rodríguez Palacios F., "LAS BETALAINAS COMO COLORANTES NATURALES EN ALIMENTOS", Industria Alimentaria.
- 46.- Santos S.E., "COLORANTES EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA", Tesis, Facultad de Química, UNAM, 1981.
- 47.- Saguy I., "THERMOSTABILITY OF RED BEET PIGMENTS. INFLUENCE OF PH AND TEMPERATURE", Journal of Food Science, Vol 44, 1979.
- 48.- Saguy I., Kopelman J., "THERMAL KINETIC DEGRADATION OF BETANIN AND BETALAMIC ACID", Journal Agriculture Food Chemistry, Vol 26, # 2, 1978, p 380.
- 49.- Saguy I., Kopelman J., "COMPUTER AIDED DETERMINATION OF BEET PIGMENTS", Journal of Food Science, Vol 43, 1978, p 124.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- 50.- Saquy I., Goldman M., "EFFECT OF OXYGEN RETAINED ON BEET POWDER ON THE STABILITY OF BETANINE AND VULGAXANTHINE I", Journal of Food Science, Vol 49, 1984, p 99.
- 51.- Sapers G.M., "VARIETAL DIFFERENCES IN COLORANT PROPERTIES AND STABILITY OF RED BEET PIGMENTS", Journal of Food Science, Vol 44, 1979, p 1247.
- 52.- Sarli E. Antonio, "TRATADO DE HORTICULTURA", Ed. Hemisferio Sur S.A., 2ª edición, Argentina, 1980, p 116.
- 53.- Secretaría de Programación y Presupuesto, "ANUARIO DE COMERCIO EXTERIOR DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS", 1988.
- 54.- Secretaría de Salubridad y Asistencia, "FARMACOPEA DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS", 4ª edición, 1974.
- 55.- Singer J.W., "DEGRADATION RATES OF VULGAXANTHINE I", Journal of Food Science, Vol 45, 1988, p 489.
- 56.- Shih C.C., Wiley R.C., "BETACYANINE AND BETAXANTHINE DECOLORING ENZYMES IN THE BEET (BETA VULGARIS) ROOT", Journal of Food Science, Vol 47, 1981, p 164.
- 57.- Spears Kenneth, "DEVELOPMENT IN FOOD COLOURING: THE NATURAL ALTERNATIVES", Food Technology, Vol 6, # 11, november. 1988, p 284.
- 58.- Tchoubar Bianca, "MECANISMOS DE REACCION EN QUIMICA ORGANICA", Ed. Limusa Wiley S.A., México D.F., 1965.
- 59.- Valadez López A., "PRODUCCION DE HORTALIZAS", Ed. Limusa, México D.F., 1989. p 134.
- 60.- Valadez Villareal Antonio, "PIGMENTOS DE TUNA CARDONA COMO POSIBLES COLORANTES ALIMENTARIOS", Tesis, Universidad La Salle, 1980.
- 61.- Volk William, "APPLIED STATISTICS FOR ENGINEERS", 2nd edition, Ed. Mc Graw Hill Co., 1969.
- 62.- Von Elbe J.H., "QUANTITATIVE ANALYSIS OF BETACYANINS IN RED TABLE BEETS", Journal of Food Science, Vol 37, 1972.
- 63.- Von Elbe J.H., "EVALUATION OF BETALAIN PIGMENTS ASSAUSAGE COLORANTS", Journal of Food Science, Vol 39, 1974.
- 64.- Von Elbe J.H., "COLOR STABILITY OF BETANIN", Journal of Food Science, Vol 39, 1974, p 334.
- 65.- Weisser A., "FDA REGULATION OF FOOD COLORS", Food Technology, May, 1975, p 38.