



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

**EXTRACTO DE BETABEL (*BETA VULGARIS L.*)
ENCAPSULADO POR GELIFICACIÓN IÓNICA PARA SU
APLICACIÓN EN PRODUCTOS ALIMENTICIOS**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO DE ALIMENTOS

PRESENTA

FRANCISCO JAVIER RAMÍREZ CAPULÍN

DIRECTOR DE TESIS

M.en C. ARGELIA SÁNCHEZ CHINCHILLAS



Ciudad Universitaria, CD. MX



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

ÍNDICE

1. Introducción	1
2. Marco teórico	2
2.1 Alimentos funcionales.....	2
2.1.1 Tendencia en aplicaciones de alimentos funcionales.....	4
2.2 Compuestos biológicamente activos de los alimentos.....	6
2.2.1 Clasificación de los compuestos biológicamente activos.....	6
2.3 Betabel.....	9
2.3.1 Betalaínas	10
2.3.2 Importancia biológica de las betalaínas y otros compuestos biológicamente activos del betabel (Beta vulgaris L).....	13
2.3.3 Estabilidad de las Betalaínas.....	15
2.3.4 Vías de degradación de betalaínas.....	16
2.4 Microencapsulación.....	20
2.4.1 Procesos de microencapsulación.....	21
2.4.2 Agentes de microencapsulación.....	26
2.4.3 Ventajas de la microencapsulación.....	27
2.4.4 Microencapsulación de Betalaínas.....	27
3. Hipótesis	29
4. Objetivos	29
4.1 Objetivo general.....	29
4.2 Objetivos específicos.....	29
5. Metodología	30
5.1 Diagrama experimental.....	30
5.2 Análisis fisicoquímicos del extracto de betabel.....	31
5.3 Determinación e identificación del contenido de betalaínas.....	31
5.4 Microencapsulación de betalaínas.....	32
5.5 Estudio sensorial.....	33
5.6 Análisis estadístico.....	34

6. Resultados y Discusión	35
6.1 Medición de parámetros fisicoquímicos del extracto de betabel.....	35
6.2 Determinación e identificación del contenido de betalaínas.....	36
6.2.1 Contenido e identificación de betalaínas (betacianinas y betaxantinas)	35
6.2.2 Determinación del contenido de polifenoles totales: por el método de Folin Ciocalteu.....	38
6.3 Microencapsulación de Betalaínas con alginato de sodio.....	38
6.4 Estudio Sensorial.....	41
6.4.1 Apariencia.....	43
6.4.2 Textura.....	44
6.4.3 Tamaño de esfera.....	45
6.4.4 Sabor.....	46
6.4.5 Color	47
6.4.6 Nivel de agrado en general.....	48
6.4.7 Intención de compra.....	49
7. Conclusiones	52
8. Bibliografía	53
9. Anexos	62
1 Materiales, reactivos y equipos.....	62
2 Curva patrón del ácido gálico.....	64
3 Cuestionario de la Evaluación Sensorial.....	65
4 Análisis estadístico de la determinación del contenido de Betalaína.....	68
5 Análisis estadístico del estudio sensorial.....	70

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Composición química del betabel (<i>Beta vulgaris</i> L.)	10
Tabla 2: Características y diferencias de los tipos de Betalaínas (Betacianinas y Betaxantinas).....	12
Tabla 3: Contenido de Betaínas totales (Betacianinas y Betaxantinas) presentes en el extracto de pulpa seca de betabel (<i>Beta vulgaris</i> L.).....	13
Tabla 4: Características fisicoquímicas del extracto de betabel (<i>Beta vulgaris</i> L) con y sin tratamiento de congelación	36
Tabla 5: Caracterización y cuantificación de Betalaínas (Betacianicas y Betaxantinas) de extractos provenientes del betabel con y sin tratamiento de congelación.....	37
Tabla 6: Caracterización y cuantificación de microcápsulas de Betalaínas (Betacianicas y Betaxantinas) de extractos provenientes del betabel	39
Tabla 7: Contenido de polifenoles totales con microcápsulas de un extracto proveniente del betabel	40
Tabla 8: Determinación del contenido de los compuestos fenólicos presentes en un extracto proveniente del betabel.....	41

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Compuestos bioactivos de los alimentos	6
Figura 2: Compuestos fenólicos	7
Figura 3: Estructuras químicas de algunos flavonoides	8
Figura 4: Imagen del Betabel	11
Figura 5: Estructura química del ácido betalámico, betanina y betaxantina.....	12
Figura 6: Vías de degradación de Betaninas.....	19
Figura 7: Procesos de Microencapsulación.....	21
Figura 8: Esfera del extracto del Betabel.....	42
Figura 9: Extracto de betabel encapsulado aplicado en matrices alimenticias....	42
Figura 10: Segmentación de la escala hedónica en tres.....	42

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Resumen de las comparaciones por pares : Apariencia.....	43
Gráfico 2: Resumen de las comparaciones por pares : Textura.....	44
Gráfico 3: Resumen de las comparaciones por pares : Tamaño de esferas.....	45
Gráfico 4: Resumen de las comparaciones por pares : JAR Tamaño de esferas.....	46
Gráfico 5: Resumen de las comparaciones por pares : Sabor.....	47
Gráfico 6: Resumen de las comparaciones por pares : Color.....	48
Gráfico 7: Resumen de las comparaciones por pares : Agrado en general.....	49
Gráfico 8: Porcentaje de la intención de compra	50
Gráfico 9: Preferencia de las dos matrices alimenticias	50

1.- INTRODUCCIÓN:

La tendencia de la adquisición y desarrollo de productos alimenticios, en la actualidad está dirigida a considerar aquellos que aporten un beneficio adicional a la nutrición básica. Aumentando el contenido de vitaminas y nutrimentos inorgánicos, probióticos, prebióticos, agentes antimicrobianos, antioxidantes, entre otros compuestos biológicamente activos que han contribuido al desarrollo de los denominados alimentos funcionales.

La OMS recomienda consumir al menos 400 g/día de frutas y hortalizas variadas y aumentar el consumo de otros alimentos de origen vegetal (cereales integrales, leguminosas y frutos secos), ya que contienen otros componentes biológicamente activos que se han reportado responsables del efecto protector frente al estrés oxidante y a la carcinogénesis.

Los antioxidantes son compuestos que inhiben la oxidación de otras moléculas, su biodisponibilidad está determinada por su naturaleza y función. La susceptibilidad a la oxidación de estas puede limitar su estabilidad y procesamiento. Es por ello que en el presente trabajo experimental se realizó una alternativa hacia la industria y el consumidor en encapsular el extracto que contiene los antioxidantes provenientes del betabel (*Beta vulgaris* L.) para su incorporación en una matriz alimenticia y promover un mayor consumo de dichos compuestos biológicamente activos.

2.- MARCO TEÓRICO

2.1 Alimentos funcionales

Debido a la necesidad de la industria de satisfacer el interés que tienen en consumir alimentos que aporten beneficios a la salud, se han desarrollado desde hace varias décadas los “alimentos funcionales”.

El concepto surgió en 1980 en Japón para reducir el costo creciente que estaba generándose en el sector salud, pero fue hasta 1991 cuando se estableció la categoría de alimentos potencialmente beneficioso denominados “alimentos de uso específico para la salud” (Food for Specific Health, FOSHU, por sus siglas en inglés), refiriéndose a aquellos alimentos con componentes que desempeñan una función favorable y específica en las funciones fisiológicas del organismo humano más allá de su aporte nutricional. Para su aprobación como FOSHU, un alimento debe cumplir fundamentalmente tres requisitos:

- 1) Evidencia científica de su eficacia, incluyendo estudios clínicos.
- 2) Que su consumo sea seguro, con estudios adicionales en humanos.
- 3) Determinación analítica de sus compuestos biológicamente activos (Arai *et al.*, 2001).

Actualmente no existe una definición ni legislación de “alimento funcional” que esté homologada debido a que existen variaciones dependiendo del país y el contexto utilizado. Para los fines de este trabajo se definirá a los alimentos funcionales como los productos alimenticios de origen animal o vegetal, consumidos en la dieta diaria, que además de aportar los nutrimentos poseen componentes biológicamente activos. Estos compuestos ejercen efectos farmacológicos que modulan funciones terapéuticas en el cuerpo que resultan benéficas para la salud (Jacobs *et al.*, 2009).

Diplock y colaboradores describen que un alimento funcional puede ser un alimento natural o un alimento en el que un componente haya sido añadido/retirado tecnológica o biotecnológicamente. También puede ser un alimento en el que la naturaleza o la biodisponibilidad de uno o más de sus componentes han sido

modificados, o cualquier combinación de éstas. Un alimento funcional puede serlo para todos los miembros de una población o para un grupo específico, que puede estar definido, por ejemplo: edad o constitución genética, destacando los siguientes elementos:

- a) El efecto funcional es distinto que a los nutrimentos de la dieta básica.
- b) Consiste en una mejoría de funciones fisiológicas (incluyendo funciones psicológicas como el bienestar) o en reducción del riesgo de desarrollar una patología.
- c) Se trata de un alimento, no de una píldora o cápsula, y debe consumirse como parte de la dieta normal (Kwak *et al.*, 2011).

Un alimento funcional puede ser un alimento tradicional, y también uno elaborado a partir de uno tradicional mediante una o varias de las siguientes modificaciones:

1. Eliminación de un componente conocido que causa un efecto perjudicial cuando se consume (e.g. proteína alergénica).
2. Aumento de la concentración de un componente presente de forma natural en el alimento hasta un nivel en el que se produzca el efecto benéfico deseado (e.g. yogurt adicionado con proteína).
3. Adición de un componente que el alimento previamente no contenía con efectos fisiológicos benéficos (e.g. productos lácteos con prebióticos).
4. Sustitución parcial de un ingrediente, cuya ingesta es normalmente alta y puede tener un efecto negativo, por otro con efectos fisiológicos beneficiosos (e.g. leche entera por deslactosada con vitaminas A, D, y E).
5. Aumento de la biodisponibilidad o estabilidad de un componente que produzca un efecto benéfico o que reduzca el riesgo de padecer una enfermedad (e.g. bebidas con incorporaciones de antioxidantes) (Roberfroid, 2002).

2.1.2 Tendencias en aplicaciones de alimentos funcionales

Actualmente, el desarrollo de nuevos productos está dirigido a los alimentos funcionales que atiendan distintas problemáticas, necesidades o requerimientos que está pidiendo el consumidor, a través de una o más modificaciones descritas anteriormente:

- **Desarrollo fetal y crecimiento**

En esta etapa de la vida las necesidades energéticas y de determinados nutrientes son más elevadas que en otras etapas y tanto la dieta de la madre como la del propio niño pueden influir en su desarrollo y crecimiento. En este grupo se encuentran alimentos enriquecidos con hierro, ácido fólico en cereales de desayuno, yodo en sal, calcio y vitamina D en lácteos, nutrientes para la infancia en fórmulas infantiles, entre otros (Serrano *et al.*, 2005).

- **Efectos en la microbiota intestinal**

El equilibrio de la microbiota intestinal es importante para mantener una buena salud y prevenir enfermedades ya que entre sus funciones se incluyen el efecto barrera o resistencia a la colonización de microorganismos potencialmente patógenos, funciones tróficas sobre la proliferación y diferenciación del epitelio intestinal y sobre el desarrollo y la modulación del sistema inmune.

La categoría engloba los alimentos probióticos, prebióticos, simbióticos y los ricos en fibra, los cuales se han demostrado que ejercen efectos benéficos en patologías del tracto gastrointestinal como diarreas, intolerancia a la lactosa, cáncer de colon y enfermedades intestinales crónicas, entre otras (Gaurner, 2007).

- **Agentes xenobióticos**

Se designa xenobióticos a los compuestos naturales y sintéticos, a los que un individuo está expuesto (forman parte de pinturas, plásticos, cigarrillos, cosméticos, medicamentos, entre otros.). De acuerdo a la dosis en que el individuo está expuesto se podrían causar efectos negativos para la salud.

El organismo puede realizar su modulación mediante compuestos biológicamente activos de los alimentos. Por ejemplo, la actividad citocromo CYP3A4, involucrada

en la biotransformación de distintos fármacos como la ciclosporina o felodipina, es muy sensible a compuestos biológicamente activos presentes en el vino, jugo de naranja o en ajo (Gaurner, 2007).

- **Funciones psicológicas**

El apetito o sensación de saciedad, rendimiento cognitivo, humor, manejo del estrés también son un área de desarrollo para implementar estos alimentos funcionales: En esta área se podrían incluir alimentos ricos en fibra (su efecto sobre la saciedad), con sustancias excitantes (cafeína, ginseng) o tranquilizantes (melisa) extraídas de plantas, entre otros (Gaurner, 2007).

- **Reacciones con radicales libres**

Los mecanismos que involucran la formación de radicales libres están implicados en el inicio y progresión de diversas patologías como DM II, enfermedades cardiovasculares e incluso neoplasias. Los estudios epidemiológicos son incompletos, pero en general apoyan la hipótesis de que una ingesta adecuada y equilibrada de alimentos ricos en antioxidantes contribuye a proteger a las células y tejidos del efecto nocivo de los radicales libres y, por tanto, se reduciría el riesgo de padecer ciertas patologías (Harris *et al.*,2003).

Entre los compuestos biológicamente activos más destacados se encuentran: las vitaminas: E (frutos secos, germen de trigo) y C (cítricos, kiwi), carotenoides (licopeno en tomate, β -caroteno en zanahorias), zinc y selenio (carnes, pescados, huevos), compuestos de azufre (col, cebolla, ajo), flavonoides y otros polifenoles (vegetales en general). En los últimos años ha sido significativo el aumento de productos enriquecidos con sustancias antioxidantes (Harris *et al.*,2003).

2.2 Compuestos biológicamente activos de los alimentos

La presencia y concentración de los compuestos biológicamente activos (CBA) en alimentos, también llamados fitoquímicos al referirse a compuestos de origen vegetal, estará en función de diversos factores como climatológicos, agronómicos, tecnológicos o culinarios, entre otros (Cámara-Hurtado, 2003).

Los CBA poseen cierta actividad biológica dentro del organismo, confieren las características específicas que convierten a un alimento en funcional. Se traduce en bienestar para el individuo y menor riesgo de padecer determinadas enfermedades.

2.2.1 Clasificación de los compuestos biológicamente activos

De acuerdo con Innova Market Insights (2015) los consumidores prefieren que dichos componentes tengan un origen natural en vez de sintético, por lo que normalmente se extraen de plantas, de subproductos del procesamiento de alimentos o incluso, de algas. Los CBA pueden clasificarse según su naturaleza química, como se observa en la **Figura 1**.

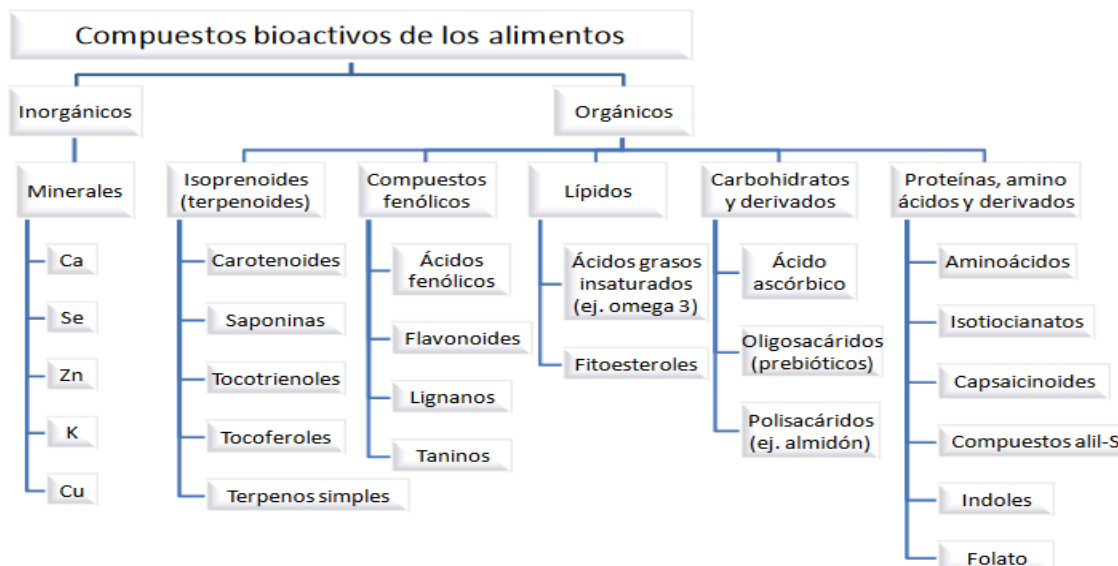


Figura 1: Algunos de los compuestos biológicamente activos que se pueden encontrar en los alimentos, clasificados según su naturaleza química (Milner, 2004).

Compuestos Fenólicos

-Polifenoles: Son un conjunto heterogéneo de moléculas con actividad antioxidante que incluye a los fenoles ácidos y flavonoides (**Figura 2A**) En términos generales, los fenoles ácidos se caracterizan por tener un anillo aromático central como en el caso del ácido cinámico y otros derivados (**Figura 2B**).

Existe una gran variedad de fenoles ácidos distribuidos en productos de origen vegetal como son la curcumina, el ácido cafeíco, ácido ferúlico y ácido clorogénico que están presentes en las semillas de mostaza, frutas, semillas de café y soya (Milner, 2004).

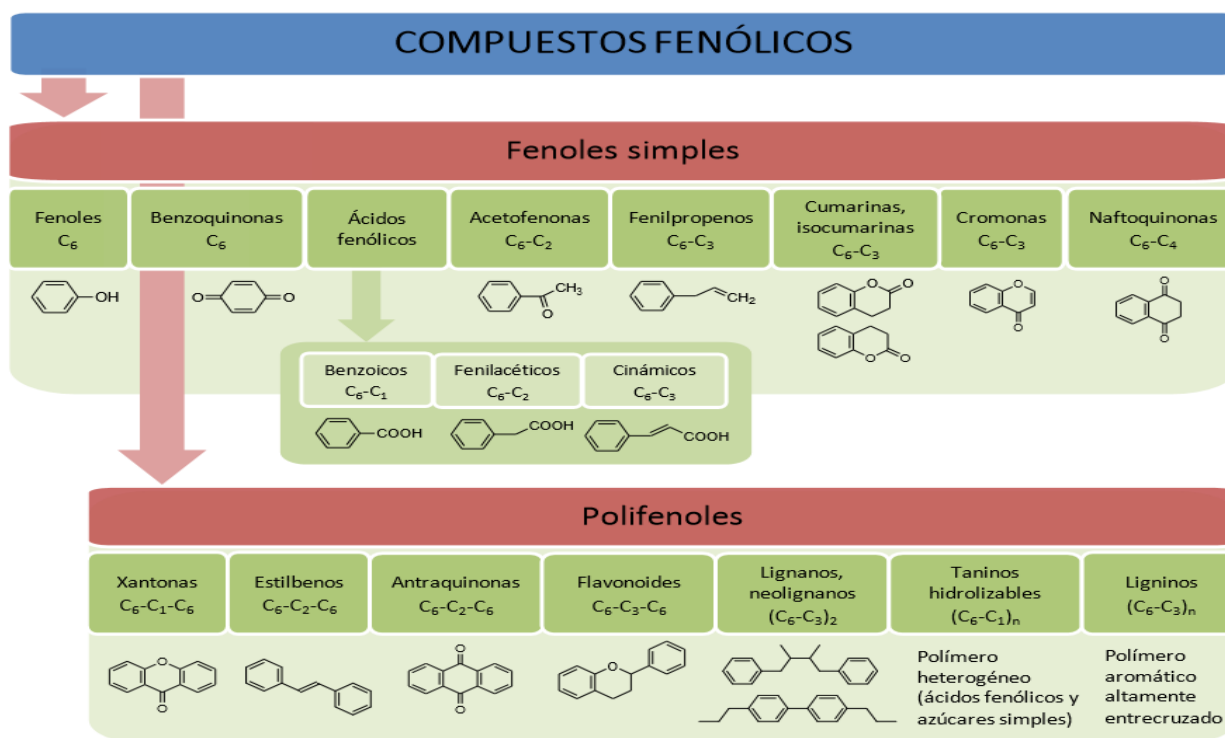


Figura 2: Clasificación de los compuestos fenólicos:

2A Fenoles simple, **2B:** Polifenoles (Milner, 2004).

-Flavonoides: Pertenecen al grupo de los polifenoles, se caracterizan por tener una estructura de tres anillos formada de dos centros aromáticos y un heterociclo central oxigenado. Dentro de los flavonoides se incluyen a las flavonas, flavanonas, catequinas y antocianinas (**Figura 3**). Por ejemplo, las flavonas, como la quercetina, se encuentran en la cebolla y lechuga, la flavanona, en cítricos, mientras que las catequinas en vino rojo y la epicatequina y la epicatequina en el té. Dentro del grupo de las antocianinas se distingue la delphinidina presente en las cerezas y en la cáscara de frutas con pigmentos oscuros coloridos (Nijveltd *et al.*, 2001).

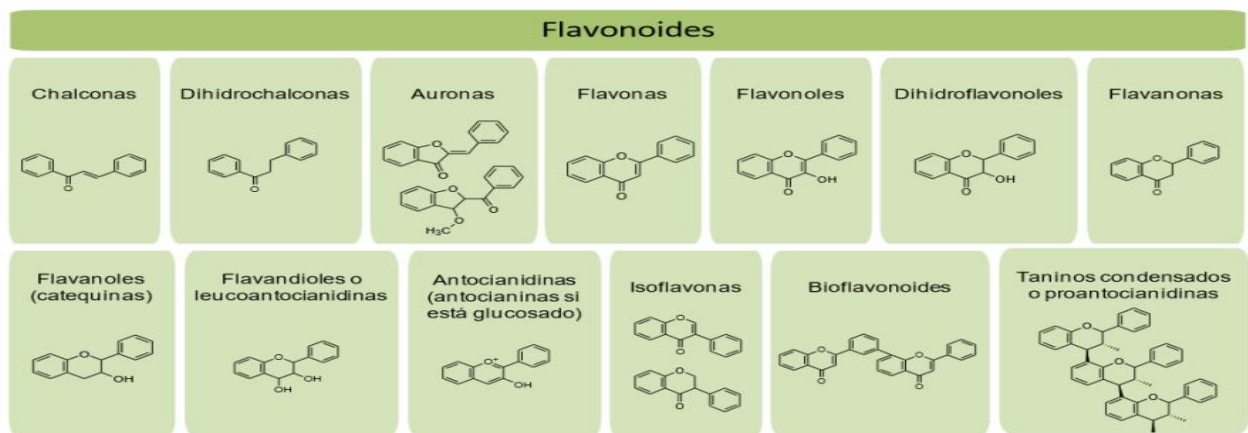


Figura 3: Estructuras químicas de algunos Flavonoides (Nijveltd *et al.*, 2001).

Lignanós:

Se definen como compuestos diméricos fenilpropanoides presentes en mayor abundancia en la cascarilla de la semilla de linaza y de centeno. Los lignanos vegetales son compuestos glicosilados almacenados en vacuolas y son convertidos en fitoestrógenos activos por la microbiota del colon intestinal como es el caso del enterodiol que deriva del secoisolariciresinol (Dixon 2004).

Isoprenoides:

-Terpenos: Moléculas lineales formadas de unidades poliméricas de isopreno con propiedades antioxidantes que protegen a lípidos y componentes celulares del ataque de agentes oxidantes como radicales libres de oxígeno, superóxido e hidroxilo. Los terpenos mejor conocidos son el escualeno y los carotenoides, los

cuales están ampliamente distribuidos en productos vegetales verdes, cereales y leguminosas (Stuchílk, *et al.*, 2002).

-Fitoesteroles: Son triterpenos insaturados con uno o dos dobles enlaces entre carbono y carbono. Pueden formar ésteres con ácidos grasos, ácidos fenólicos o hexosas (usualmente glucosa).

Los fitoesteroles y fitoestanoles inhiben la absorción intestinal de colesterol, por ello, su consumo se ha asociado con la disminución del riesgo de enfermedades del corazón (Gylling *et al.*, 2005). También se ha reconocido que poseen propiedades inmunomoduladoras que podrían ser benéficas para la prevención del cáncer de colon, de mama y daño tisular asociado a inflamación (Boulce. 2001).

Compuestos organosulfurados:

-Isotiocianatos: Moléculas presentes en el berro, calabaza y brócoli. Cuando estos vegetales son macerados, cortados o masticados, la enzima mirosinasa se activa e hidroliza conjugados tioglucósidos para generar los isotiocianatos.

Los isotiocianatos de origen natural más conocidos son el bencil isotiocianato, feniletil isotiocianato y sulforafano. Algunos isotiocianatos ayudan a inhibir a las enzimas de fase I de biotransformación como el complejo citocromo oxidasa p450. Sí este complejo no fuera inhibido entonces favorecería la biotransformación de carcinógenos capaces de unirse covalentemente a macromoléculas para formar aductos de ADN o de proteínas (Okada *et al.*, 2005).

2.3 Betabel

El betabel (**Figura 4**) también conocido como remolacha y betarraga, cuyo nombre científico es *Beta vulgaris*, forma parte del grupo de las quenopodiáceas y de la familia de las amarantáceas. Esta planta de tipo herbáceo cuenta con un tallo grueso que puede tener una altura de dos metros, hojas ovales de gran tamaño y pequeñas flores de color verdoso (Kujala *et al.*, 2002).

En México los principales estados productores de este cultivo son: Puebla, Jalisco, Sonora, Baja California, Guanajuato (CANACA, 2015). Dichos estados mencionados destinan 7 Ha para producir un promedio anual de 67 toneladas reportado por el INEGI en 2015. Necesita el invierno para florecer y es una planta bienal, por lo que está en el campo todo el año.

El rendimiento potencial es aproximadamente de 180g por planta, llegando a ser el rendimiento de 1.9 kg/m², además los residuos se utilizan para la producción de etanol, por lo que se considera uno de los tubérculos con mayor rendimiento (SAGARPA, 2014).

En la Tabla 1 se presenta la composición química del betabel, destacándose el contenido de agua e hidratos de carbono. Además, contiene pigmentos llamados Betalaínas que se componen de Vulgaxantina I, vulgaxantina II, indicaxantina, betanina, prebetanina, isobetanina y neobetanina, y una serie de compuestos fenólicos que incluyen ácidos fenólicos, flavonoides y ácidos orgánicos e inorgánicos.

Contiene cantidades bajas de ácido ascórbico que puede aumentar adicionalmente la capacidad antioxidante total (Lee *et al.*, 2005).

Tabla 1. Composición Química del betabel (*Beta vulgaris* L) expresada en g/100 g.

Componente	Contenido
Energía (kcal)	37.50
Agua	88.30
Hidratos de carbono	6.70
Proteína	1.30
Extracto Etéreo	Tr*
Fibra	3.20
Nutrientes Inorgánicos (Cenizas)	0.05

Tr= trazas

Fuente: USDA; 2015

Las betalaínas son utilizadas como colorantes naturales por la industria alimentaria, aceptadas en diversas legislaciones y clasificadas como aditivo E-162 (EU) y 73.40 (FDA, EU). Actualmente, han recibido una creciente atención debido a los posibles beneficios para la salud en humanos, especialmente sus actividades antioxidantes y antiinflamatorias (Zielinska-Przyjemska *et al.*, 2009; Georgie *et al.*, 2010;). Otros beneficios incluyen la inhibición de la peroxidación lipídica (Reddy *et al.*, 2005), aumento de la resistencia a la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL) (Tesoriere *et al.*, 2003) y efectos quimio-preventivos (Zhang *et al.*, 2013).



Figura 4: Betabel (*Beta vulgaris* L.)

2.3.1 Betalaínas

Las betalaínas son pigmentos naturales hidrosolubles que son utilizados potencialmente como colorantes (rojos y amarillos) y poseen una alta actividad antioxidante (Allegra *et al.*, 2005, Cai *et al.*, 2005; Tesoriere *et al.*, 2005; Moreno *et al.*, 2008). Estos pigmentos son particularmente escasos en la naturaleza; se encuentran en el betabel (*Beta vulgaris* L.), semillas y hojas de amaranto (*Amaranthus* sp) y en algunas cactáceas del género *Opuntia* y *Hylocereus*, como la tuna púrpura y las pitayas (Corke, 1998; Stintzing *et al.*, 2002; Vaillant *et al.*, 2005). Las betalaínas usualmente se extraen con disolventes polares (agua, etanol y metanol) con o sin aplicación de temperatura (Delgado *et al.*, 2000).

Este grupo de compuestos se derivan del ácido betalámico (**Figura 5A**) y se clasifican principalmente en dos grupos: las betacianinas, responsables del color rojo-púrpura y las betaxantinas, de coloración amarillo-anaranjado. Tabla 2 (Delgado *et al.*, 2000; Castellar *et al.*, 2003; Allegra *et al.*, 2005; Sáenz, 2006)

Tabla 2: Características y diferencias de los tipos de Betalaínas (Betacianina y Betaxantina)

Tipo de Betalaína	Coloración característica	Longitud de onda	Grupo funcional característico
Betacianina	Rojo	535-550 nm	3,4-dihidroxifenilalanina (DOPA) puede estar o no glicosilado
Betaxantina	Amarillo- Anaranjado	475-480 nm	Aminoácidos o derivados aminos

Fuente: Forni *et al.*, 1992; Delgado Vargas *et al.*, 2000; Castellar *et al.*, 2003; Allegra *et al.*, 2005; Sáenz, 2006.

Tanto las betacianinas y betaxantinas se encuentran presentes tanto en la cáscara, pero la mayor concentración está en la pulpa del fruto (Domínguez-López, 1996; Castellar *et al.*, 2003; Sepúlveda *et al.*, 2003).

Dentro de las betacianinas del betabel se han identificado principalmente la betanina (**Figura 5 B**) y en menores niveles la isobetanina (Sáenz *et al.*, 2009). En el grupo de las betaxantinas se ha identificado sólo la indicaxantina (**Figura 5 C**) (Butera *et al.*, 2002; Fernández *et al.*, 2002; Castellar *et al.*, 2003; Allegra *et al.*, 2005)

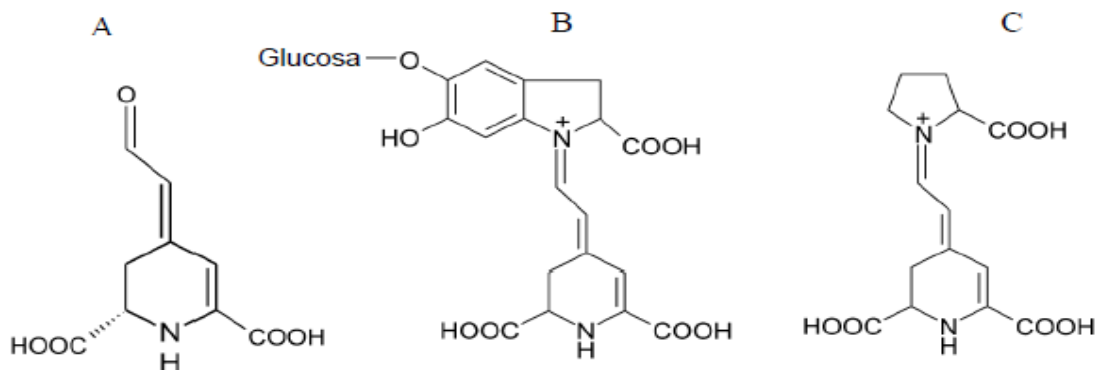


Figura 5: Estructura química del Ácido Betalámico (A), Betanina (B), Betaxantina (C) (Allegra *et al.*, 2005; Azeredo, 2008).

El contenido de betacianinas y betaxantinas en el betabel puede variar dentro del rango de 0.04 a 0.21% y 0.02 a 0.14% respectivamente, dependiendo del cultivo (Azaredo, 2009). Sin embargo, de 80 a 90% del pigmento total contenido en el betabel es atribuido a las betaninas (rojo), principalmente: (betanidina 5-O-glucósido) y su isómero C 15-isobetanina, mientras que laulgaxantina I (amarilla) representa la betaxantina predominante (Azaredo, 2009).

El contenido de betalaínas depende del cultivar o variedad, madurez, clima y procedencia del fruto (Domínguez-López, 1996; Sepúlveda *et al.*, 2003; Sáenz, 2004; Stintzing y Carle, 2004). Vulic y colaboradores en 2012 realizaron un análisis por espectrometría ($\lambda = 435$ y 580 nm) en donde determinaron el contenido de betalaínas presentes en diferentes cultivos de betabel (Tabla 3).

Tabla 3: Contenido de Betalaínas totales (Betacianinas y Betaxantinas) presentes en el extracto de pulpa seca de betabel (*Beta vulgaris* L.)

Variedad de cultivo	<i>Cardeal-F1</i>	<i>Egyptian</i>	<i>Bicor</i>	<i>Krestel</i>
Betacianinas	1.25±0.03 ^b	0.46± 0.02 ^a	1.99±0.16 ^b	0.62±0.16 ^a
Betaxantinas	0.74±0.02 ^{a,b}	0.29±0.01 ^a	1.76±0.04 ^b	0.046±0.01 ^a
^a Valores expresados como mg de equivalentes de ácido gálico /g de peso seco de pulpa de betabel				
^b Valores expresados como mg de equivalentes de betanina /g de peso seco de pulpa de betabel				

Fuente: Vulic *et al.* (2012)

2.3.2 Importancia biológica de las betalaínas y otros compuestos biológicamente activos del betabel

El betabel posee compuestos conocidos como funcionales y promotores de la salud (Piga, 2004). Diversos autores han reportado que las betalaínas (betanina e indicaxantina) poseen actividad antioxidante, por lo que su consumo se asocia a la protección contra enfermedades relacionadas con el estrés oxidante (Butera *et al.*, 2002; Lee *et al.*, 2005; Stintzing *et al.*, 2005; Tesoriere *et al.*, 2005).

Dicha actividad antioxidante de las betalaínas se atribuye al grupo fenólico y grupo amino cíclico presentes en su estructura, los cuales donan átomos de hidrógeno o electrones a radicales libres (Kanner *et al.*, 2001; Moreno *et al.*, 2008). Diversos experimentos *in vitro* e *in vivo* muestran que las betaxantinas y betacianinas poseen actividad antioxidante en ambientes biológicos como membranas celulares y células (Tesoriere *et al.*, 2005; Allegra *et al.*, 2005).

También se han evidenciado acciones antiinflamatorias en células endoteliales y efectos sobre células de líneas tumorales (Gentile *et al.*, 2004; Sreekantah *et al.*, 2007). Por ejemplo: Gentile y colaboradores en 2004 observaron que las betalaínas protegen células endoteliales contra la oxidación, lo que indicaría un efecto protector contra procesos inflamatorios conducentes a problemas cardiovasculares posteriores. Por su parte Wu y colaboradores en 2006 reportaron que las betalaínas presentes tienen un fuerte poder inhibitor sobre la proliferación de células cancerígenas en estudios *in vitro*.

Estudios en seres humanos han demostrado que el consumo de betabel puede disminuir el estrés oxidante y que la betanina y la indicaxantina son altamente biodisponibles. Además, se detectó la reacción de betalaínas en las LDL, lo que sugiere que tanto betanina como indicaxantina pueden participar en la protección del LDL contra modificaciones oxidativas (Tesoriere *et al.*, 2005). La naturaleza catiónica de las betalaínas favorecería la interacción de estas moléculas solubles en agua con moléculas polares de las membranas y de las LDL (Kanner *et al.*, 2001).

Pruebas clínicas mostraron que la ingestión de jugo de betabel retarda la oxidación de los lípidos, efectos que se atribuyen a las betalaínas (Moreno *et al.*, 2008). Los estudios *in vivo* reportados por Moreno y colaboradores coinciden en señalar que las betalaínas estarían relacionadas con diversos efectos protectores contra procesos oxidativos en el organismo, contribuyendo por lo tanto a prevenir la incidencia de enfermedades crónicas no transmisibles.

El betabel posee compuestos fenólicos, los cuales presentan propiedades antioxidantes en sistemas biológicos que se atribuyen a su capacidad para inactivar

radicales libres y quelar metales. Se han descrito mecanismos por donación de un átomo de hidrógeno a través de la ruptura homolítica del enlace OH y transferencia de electrones (Leopoldini *et al.*, 2011).

2.3.3 Factores que afectan la estabilidad de las betalaínas

La estabilidad es un factor importante a considerar para la incorporación de las betalaninas en productos alimenticios, como lo reportan varios estudios de pigmentos obtenidos de betabel (von Elbe *et al.*, 1974; Hornstein., 1979; Delgado Vargas *et al.*, 2000; Herbach *et al.*, 2006; Azeredo, 2008), en betalaínas de tuna púrpura (Butera *et al.*, 2002; Castellar *et al.*, 2003; Moßhammer *et al.*, 2005; Stintzing *et al.*, 2005; Herbach *et al.*, 2006; Azeredo, 2008) y en betalaínas de amaranto (Corke, 1998 y 2000).

Se ha establecido que los principales factores intrínsecos que influyen en la estabilidad de las betalaínas son: actividad de agua (a_w), presencia de metales, acción enzimática, mientras que los extrínsecos son: temperatura, pH, luz y presencia o ausencia de oxígeno, siendo la temperatura el factor que tiene un mayor impacto en la degradación de las betalaínas (Herbach *et al.*, 2006).

- ✓ **Temperatura:** La degradación de las betalaínas depende de la temperatura y sigue una cinética de reacción de primer orden, dependiente del pH (von Elbe, 1985; Castellar *et al.*, 2003). Al calentar disoluciones de betanina se produce una reducción gradual del color rojo característico de este pigmento con la aparición de pardeamiento (Von Elbe *et al.*, 1974).
- ✓ **pH:** Las betalaínas son estables entre un rango de pH de 3 a 7, rango en el que se encuentran la mayoría de los alimentos (Delgado *et al.*, 2000; Castellar *et al.*, 2003; Stintzing *et al.*, 2005), fuera de este rango el color decrece. El pH óptimo para la estabilidad de las betalaínas del betabel en presencia de oxígeno se encuentra a pH 5.5 a 5.8, mientras que en condiciones anaeróbicas a pH 4.0 a 5.0 (Von Elbe, 1985).
- ✓ **Actividad de agua (a_w):** Las betalaínas presentan mayor estabilidad en alimentos o sistemas modelo con un bajo contenido de a_w , debido a que el

agua está menos disponible para que ocurran reacciones químicas. Valores de a_w por debajo de 0.63 mejoran la estabilidad de la betanina de betabel (Delgado *et al.*, 2000). Además, métodos para reducir la a_w , como la concentración y el secado por atomización han demostrado proporcionar estabilidad a las betalaínas, en pigmentos provenientes de tuna púrpura (*Opuntia stricta*) (Castellar *et al.*, 2006) y de amaranto (Corke, 2000).

- ✓ **Luz:** Existe una relación inversa entre la estabilidad de las betalaínas del betabel y la exposición a la luz. La degradación de betalaínas sigue una cinética de primer orden dependiente del oxígeno, ya que los efectos de la exposición a la luz son insignificantes bajo condiciones anaerobias (Attoe y von Elbe, 1981). Otros autores, observaron que la adición de 0.1% de ácido isoascórbico y 1% de ácido ascórbico en jugo de betabel inhibió la degradación inducida por la luz durante el almacenamiento de betacianina (Herbacht *et al.*, 2006).
- ✓ **Oxígeno:** La estabilidad de la betanina disminuye linealmente con el aumento en la concentración de oxígeno (Czapski, 1990) siguiendo una cinética de primer orden en presencia de oxígeno, pero en ausencia de oxígeno su comportamiento se desvía de este modelo. Se ha recomendado que para aumentar la estabilidad del pigmento es necesario colocar las muestras en atmósferas con bajas concentraciones de oxígeno, incorporando antioxidantes o utilizando atmósferas con nitrógeno, ya que de lo contrario provocaría un pardeamiento en los pigmentos (Von Elbe, 1985; Drunkler *et al.*, 2006).

2.4.4 Vías de degradación de las betalaínas

La degradación de betacianinas se ha descrito especialmente para betaninas (Herbach *et al.*, 2004 y 2006). La **Figura 2** muestra las posibles vías de degradación de betanina, asociando los productos de degradación con el color que presenta cada compuesto.

- Las principales vías de degradación que se han descrito son: isomerización, descarboxilación, desglicosilación, deshidrogenación e hidrólisis, las cuales se describen en la **Figura 6**.
- **Isomerización:** La isomerización se considera una modificación estructural más que una reacción de degradación. Las betacianinas están siempre acompañadas de su isómero en relaciones variables dependiendo del tipo de fuente. La betanina se isomeriza en el carbono C15 a isobetanina, la cual presenta propiedades cromáticas idénticas a la betanina. Se ha observado que la isomerización se produce en condiciones ácidas, alcalinas y en tratamientos térmicos (von Elbe *et al.*, 1981; Herbach *et al.*, 2004 y 2006). El ácido betalámico y la indicaxantina son susceptibles a isomerización y la indicaxantina también es susceptible a epimerización en C11 (Herbach *et al.*, 2006).
- **Desglicosilación:** Bajo condiciones fuertemente ácidas, altas temperaturas y presencia de β -glucosidasa, la molécula de glucosa puede separarse de la betanina, provocando un desplazamiento batocrómico cercano a 4 nm, obteniéndose un color rojo violeta profundo por la formación de una aglicona de menor estabilidad dada su mayor susceptibilidad a la oxidación (Herbach *et al.*, 2006).
- **Hidrólisis:** La hidrólisis de la betanina se produce por la ruptura hidrolítica del enlace aldimina, esta ruptura se ha observado en tratamientos térmicos y en condiciones de pH superiores a 6. La hidrólisis de betanina disminuye la intensidad del color, debido a que la ruptura de la betanina genera ácido betalámico (amarillo brillante) y ciclo-Dopa-5-O- β -glucósido (incolora) (Herbach *et al.*, 2006). La ruptura del enlace aldimina es reversible con una condensación de base de Schiff y pH dependiente (reacción favorecida a pH) (Huang y von Elbe, 1985 y 1987). Se ha observado recondensación de ácido betalámico y ciclo-Dopa a betanina después de cortos tratamientos térmicos (bajas temperaturas) (Huang y Von Elbe, 1985).
- **Descarboxilación:** Ocurre en los carbonos C2, C15 y C17 de las betacianinas y en los carbonos C11 y C13 de las betaxantinas. La descarboxilación produce un desplazamiento hipsocrómico, que puede ser

explicado por una disminución en la deslocalización de los electrones (Herbach *et al.*, 2006). Varios estudios han corroborado que la betanina puede ser descarboxilada en las posiciones C2, C15 y/o C17. No obstante, cuando la descarboxilación ocurre en C2 y C15 se puede considerar una ventaja ya que se mantienen las características cromáticas de su precursor, la betanina, mientras que cuando ocurre en el C17 esas características cambian a una coloración rojo-anaranjado (Herbach *et al.*, 2006).

- **Deshidrogenación:** Debido a esta reacción se genera el compuesto llamado neobetanina que se caracteriza por ser de color amarillo. La formación de neobetanina se ha confirmado en jugo de betabel sometido a un tratamiento térmico bajo condiciones anaeróbicas (Herbach *et al.*, 2004).

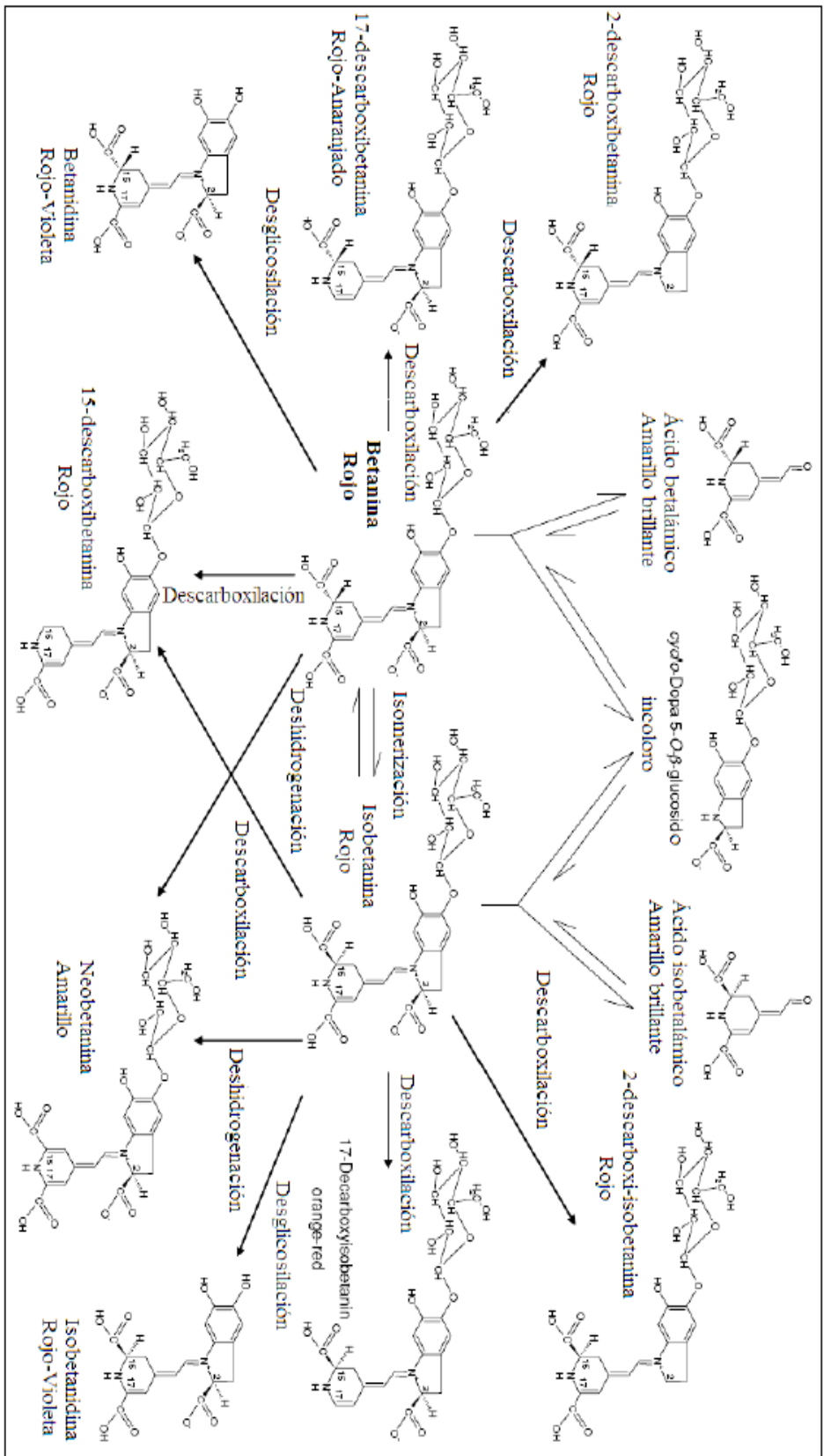


Figura 6: Vías de Degradación de Betanina (Herbach et al., 2006)

2.4 Microencapsulación

Durante el procesamiento y almacenamiento, los polifenoles pueden fácilmente reordenarse en diferentes isómeros geométricos y oxidarse, esto trae como consecuencia la disminución o pérdida del colorante y de sus propiedades biológicas. Las principales alternativas de aplicaciones para incrementar la estabilidad de los antioxidantes y así permitir su incorporación en ambientes hostiles para ellos, es la técnica de microencapsulación (Larroza y Zerlotti, 2007; Fabra *et al.*, 2009).

La microencapsulación es una técnica mediante la cual compuestos activos, sólidos, líquidos o gaseosos (antioxidantes, sabores, bactericidas, entre otros) se introducen en una matriz o sistema de naturaleza polimérica con el fin de protegerlos de su entorno, de su interacción con otros componentes del alimento o bien, para controlar su liberación (Yáñez *et al.*, 2002).

La microencapsulación también se define como una técnica por la cual gotas líquidas, partículas sólidas o gaseosas, son cubiertas con una película polimérica porosa conteniendo una sustancia activa (Araneda y Valenzuela, 2009), esta membrana, barrera o película está generalmente formada por componentes con cadenas para crear una red con propiedades hidrofóbicas y/o hidrofílicas (Fuchs *et al.*, 2006). La estructura formada por el agente microencapsulante alrededor de la sustancia microencapsulada (núcleo) se llama pared y protege al núcleo contra el deterioro y liberación bajo condiciones deseadas (Madene, 2006).

Las microcápsulas, ayudan a que los materiales alimenticios empleados resistan las condiciones de procesamiento y empaque mejorando sabor, aroma, estabilidad, valor nutritivo y apariencia de sus productos (Yáñez *et al.*, 2002; Ortega, 2007).

La industria requiere de tecnologías que protejan este tipo de moléculas del ambiente, debido a su inestabilidad en la presencia de luz, aire, humedad y altas temperaturas.

En este contexto, la utilización de la tecnología de encapsulación se presenta como una herramienta para proteger y mejorar la estabilidad de las betalainas.

La técnica de microencapsulación ha permitido solucionar problemas que han surgido en la industria alimentaria puesto que puede controlar la eliminación de saborizantes, así como reducir volatilidad, higroscopicidad y reactividad incrementando la estabilidad de productos bajo condiciones ambientales adversas. Al no efectuarse las aplicaciones de ingredientes y aditivos alimenticios podrían limitarse, puesto que puede controlar la eliminación de saborizantes, así como reducir volatilidad, higroscopicidad y reactividad incrementando la estabilidad de productos bajo condiciones ambientales adversas (Favaro *et al.*, 2010).

2.4.1 Procesos de microencapsulación

Los procesos de encapsulación se pueden dividir en dos tipos: químicos y mecánicos **Figura 7**.

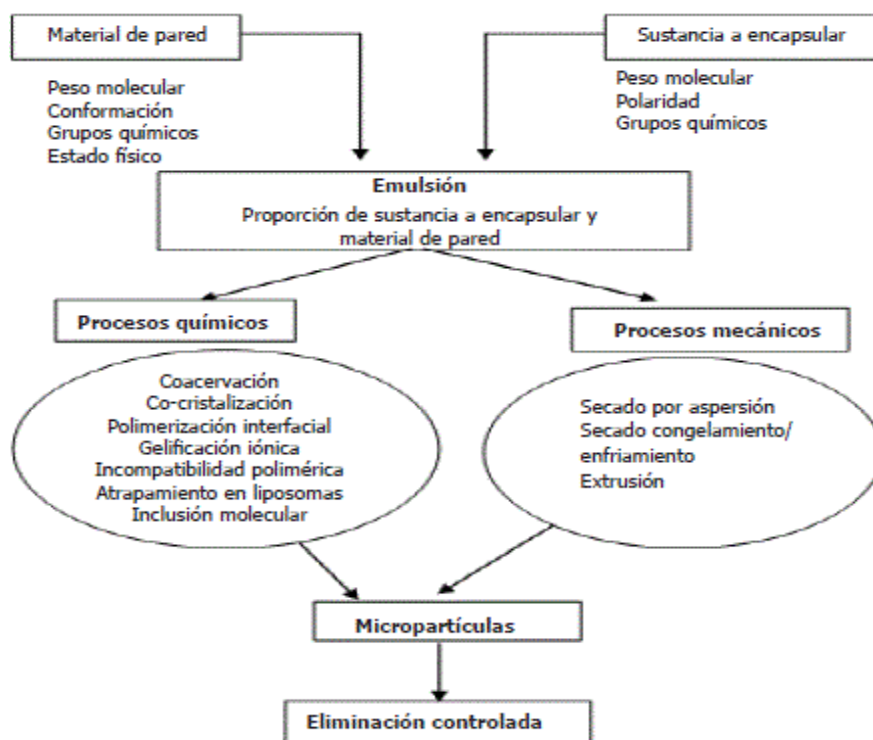


Figura 7: Ilustración esquemática de los dos procesos de microencapsulación (Madene, 2006).

Procesos químicos

Los procesos químicos se dividen en las técnicas de coacervación, co-cristalización, polimerización interfacial, gelificación iónica (interna y externa), incompatibilidad polimérica, atrapamiento por liposomas e inclusión molecular (Madene, 2006).

-Coacervación. Consiste en un soluto polimérico separado en forma de pequeñas gotas líquidas, que constituye el coacervado. La deposición de este coacervado alrededor de las partículas insolubles dispersas en un líquido forma cápsulas incipientes (Madene, 2006). Es un fenómeno que se presenta en soluciones coloidales y se considera como el método original de encapsulación.

-Co-cristalización: Es un proceso de microencapsulación donde dos ingredientes son incorporados en un conglomerado poroso de microcristales de sacarosa formados por una aglomeración del producto. Los procesos son llevados a cabo por concentración de jarabes de sacarosa hasta supersaturación. Lo anterior se logra con agitación constante del material a encapsular, esto permite una nucleación (Astolfi *et al.*, 2005).

Es una alternativa flexible y económica por ser un procedimiento relativamente simple; numerosos productos pueden ser encapsulados como jugos de frutas, aceites esenciales, saborizantes, aromatizantes y azúcar morena (sacarosa) entre otros.

-Polimerización interfacial. En este proceso se produce la polimerización de un monómero en la interfase de dos sustancias inmiscibles, formando una membrana, que dará lugar a la pared de la microcápsulas. Este proceso tiene lugar en tres pasos:

1. Dispersión de una solución acuosa de un reactante soluble en agua, en una fase orgánica para producir una emulsión de agua en aceite.
2. Formación de una membrana polimérica en la superficie de las gotas de agua, iniciada por la adición de un complejo soluble en aceite a la emulsión anterior.

3. Separación de las microcápsulas de la fase orgánica y su transferencia en agua para dar una suspensión acuosa. La separación de las microcápsulas se puede llevar a cabo por centrifugación.

-Gelificación iónica. Existen dos técnicas de gelificación:

- **Gelificación externa:** En la gelificación externa, la sal de calcio soluble es agregada a una emulsión A/O. El tamaño de partícula no puede ser bien controlado y las partículas tienden a coagular en grandes masas antes de adquirir la consistencia apropiada. Además, el tamaño de partícula que se obtiene es grande entre 400 μm y 1 mm (Villena *et al.*, 2009).
- **Gelificación interna.** La gelificación interna se basa en la liberación del ión calcio desde un complejo insoluble en una solución de alginato de sodio. Esto se lleva a cabo por acidificación de un sistema soluble. Esta técnica permite obtener partículas de un tamaño de aproximadamente 50 μm . De acuerdo con esta técnica, a la fase acuosa, generalmente formada por alginato y cloruro de calcio (Villena *et al.*, 2009).

-Incompatibilidad polimérica. En este método se utiliza el fenómeno de separación de fases, en una mezcla de dos polímeros químicamente diferentes e incompatibles en un mismo solvente. El material a encapsular interaccionará solo con uno de los dos polímeros, el cual se adsorbe en la superficie del material a encapsular, formando una película que los engloba. De manera general, este proceso se lleva a cabo en solventes orgánicos y cuando el material a encapsular es sólido (Villena *et al.*, 2009).

-Atrapamiento en liposomas. Se describe como vesículas que se forman cuando películas de fosfolípidos son dispersadas en un medio acuoso, son selectivamente permeables a iones y se pueden formar cuando una solución acuosa de sustancia activa es mezclada con la película del lípido; su aplicación en alimentos es posible si se utilizan solventes orgánicos, por ejemplo, empleando deshidratación (Schrooyen, Meer y Kruif, 2001).

-Inclusión molecular. Esta técnica es definida como el resultado de interacciones entre componentes en los cuales una pequeña molécula se ajusta dentro de otra y es rodeada por la forma circular de la otra molécula que es el agente encapsulante, en este caso es la ciclodextrina. A través de este proceso se pueden proteger sabores y otros ingredientes sensibles a la temperatura que son adicionados en alimentos como el aceite de ajo, cebolla y vitaminas A, E, K (Madene, 2006).

Procesos mecánicos

En los procesos mecánicos están las técnicas de secado por aspersión, secado por congelamiento/enfriamiento y extrusión (Yañez *et al.*, 2002; Madene, 2006).

-Secado por aspersión: La microencapsulación por el método de secado por aspersión es el método más utilizado, por ser el más económico para conservar ingredientes alimenticios, como ejemplos se tienen: vitaminas (C, E), ácido fólico, aromas, orégano, citronela, aceite de cardamomo, probióticos, lípidos (ácido linoléico, aceites vegetales) minerales como hierro; pigmentos de antocianina y leche entre otros alimentos (Wandrey, Bartkowiak y Harding, 2010).

-Aspersión por enfriamiento o congelamiento: Este método es considerado uno de los más adecuados para el secado de materiales biológicos y alimentos sensibles a la luz y temperatura (Semyonov *et al.*, 2010). La aspersión por enfriamiento y congelamiento involucran dispersión de ingredientes solubles en agua en una grasa fundida o cera; esta dispersión se realiza a través de inyectores con calefacción dentro de una cámara a temperatura ambiente o temperatura de refrigeración.

Las microcápsulas son insolubles en agua, es por ello que su contenido podría ser liberado cuando la temperatura del producto alimenticio aumenta por encima de la temperatura de fundición de la grasa o cera (Schrooyen, Meer y Kruif, 2001).

-Extrusión: Involucra el paso de una emulsión del material activo y la pared a través de un dado a alta presión. La extrusión constituye el segundo proceso más usado, después del secado por aspersión, para la encapsulación de sabores. (Yañez *et al.*, 2002).

-Procesos alternos: Antisolventes supercríticos (ASS) es una técnica análoga al secado por aspersión, el alimento es continuamente llevado a un proceso de aspersión dentro de dióxido de carbono (que actúa como antisolvente en la mayoría de polímeros incluyendo lisozima). La técnica y sus variaciones, requieren polímeros disueltos en un disolvente o mezcla (llamados co-solventes) miscibles con CO₂ para luego ser pulverizado dentro de éste CO₂ (Zhong *et al.*, 2009).

-Métodos para controlar la liberación: La liberación controlada puede ser definida como un método por el cual agentes o ingredientes están disponibles en sitios y tiempos deseados a una velocidad específica (Madene, 2006). Una ventaja es que el compuesto encapsulado se libera gradualmente del compuesto que lo ha englobado o atrapado a velocidades controladas bajo la influencia de condiciones específicas (Singh, 2007).

Para lograr con éxito la liberación deben tenerse en cuenta los siguientes aspectos: selección de la membrana, naturaleza química, morfología, temperatura de transición, el grado de hinchamiento y de cruzamiento también influyen en la difusión de la membrana, aunque pueden disminuir la velocidad de liberación (Yañez *et al.*, 2002).

La liberación controlada de las cápsulas consta de tres etapas:

1. Liberación inicial del principio activo enlazado a la superficie o embebido en la región superficial.
2. Liberación difusional del principio activo a través de la matriz del polímero y a través de los poros durante la degradación de la matriz.
3. Liberación erosional del principio activo por la desintegración de la matriz del polímero y disolución después que la matriz pierde su integridad y las cadenas del polímero, son degradadas a un tamaño lo suficientemente pequeñas como para ser solubilizadas.

2.4.2 Agentes utilizados para la microencapsulación.

***Lípidos:** los principales agentes encapsulantes de carácter lipídico están: grasa láctea, lecitinas, ceras, ácido esteárico, monoglicéridos, diglicéridos, parafinas, aceites hidrogenados como el aceite de palma, algodón y soya; ya que son excelentes formadores de películas capaces de cubrir las partículas individuales, proporcionando una encapsulación uniforme (Yañez *et al.*, 2002).

***Hidratos de carbono:** son empleados extensivamente en la encapsulación, se utiliza la técnica de secado por aspersión para ingredientes alimenticios como soporte de encapsulamiento, dentro de este amplio grupo se encuentran los almidones y maltodextrinas (Madene, 2006; Murúa *et al.*, 2009).

***Gomas:** son generalmente insípidas, pero pueden tener un efecto pronunciado en el gusto y sabor de alimentos, son solubles, algunas dan una mayor viscosidad a los líquidos en que están disueltas, poseen características de emulsificación y son muy versátiles para la mayoría de los métodos de encapsulación (Madene, 2006; Murúa *et al.*, 2009).

Como ejemplos se tienen goma de algarrobo, guar, de tamarindo, gelana y xantana (Morkhade y Joshi, 2007). Una de sus aplicaciones ha sido en inmovilización de células bacterianas, para lo cual se han utilizado alginatos y carragenina (McMaster, 2005).

***Proteínas:** el caseinato de sodio, proteína de lactosuero, aislados de proteína de soya (Madene, Scher y Desobry, 2006; Murúa, Beristain y Martínez, 2009), gluten, (Yañez *et al.*, 2002), caseína, soya, trigo y grenetina (Kwak, Ihm y Ahn, 2001; Sáenz *et al.*, 2009), este último utilizado por sus buenas propiedades de formación de películas, solubilidad de agua y biodegradabilidad (Favaro *et al.*, 2010).

***Los Eudragit:** son un grupo de polímeros derivados del ácido metacrílico que están disponibles en diferentes formas iónicas. Son solubles por la neutralización de los grupos carboxilo con la respectiva formación de la sal, y por lo tanto, exhibiendo el carácter de polielectrolito aniónico en solución. Diferentes tipos de

Eudragit se han utilizado en la elaboración de micropartículas, permitiendo la liberación de principios activos a nivel intestinal, evitando la inactivación de fármacos en el estómago, por ejemplo: en la preparación de micropartículas que permiten la administración oral de péptidos y proteínas (Villamizar y Martínez, 2008).

2.4.3 Ventajas de la Microencapsulación:

Las principales ventajas de la microencapsulación son:

- ✓ Proteger el material activo de la degradación producida por el medio ambiente (T, O₂, luz, humedad, entre otros).
- ✓ El compuesto encapsulado se libera gradualmente del compuesto que lo ha englobado o atrapado en un punto determinado.
- ✓ Las características físicas del material original pueden ser modificadas y hacer más fácil su manejo (un material líquido convertido a polvo), la higroscopia se reduce, la densidad se modifica y el material contenido puede ser distribuido más uniformemente en una muestra.
- ✓ El sabor y olor del material puede ser enmascarado.
- ✓ Puede ser empleado para separar componentes, con el fin de que estos no reaccionen.
- ✓ Estabilización de principios activos inestables.
- ✓ Transformación de líquidos en sólidos (Astray *et al.*, 2009).

2.4.4 Microencapsulación de betalaínas

Algunos de los estudios reportados para microencapsular betalaínas por procesos mecánicos se mencionan a continuación:

- Secado por atomización para jugo de betabel con goma arábiga (Pitalua *et al.*, 2010); extracto de betabel con maltodextrina (10ED) (Azeredo *et al.*, 2007) y maltodextrina (20ED) (Ravichandran *et al.*, 2012); Extractos de amaranto con maltodextrinas y almidón (Corke, 2000); extracto de indicaxantina con maltodextrina (Gandía-Herrero *et al.*, 2010).

- Liofilización para jugo de betabel y maltodextrina (5 y 20 ED) (Serris y Biliaderis, 2001).

También existen estudios para microencapsulación de betalaínas por procesos químicos como los mencionados en:

- Microencapsulación de pulpa de betabel y pulpa de tuna (*Opuntia ficus-indica*) y su extracto hidroalcohólico con maltodextrina, inulina (Tapia, 2007; Sáenz *et al.*, 2009).
- Mezclas de aislado proteico de soya con maltodextrina e inulina (Torres, 2008) con extractos de betabel.

Las betalaínas son usadas como ingredientes en la industria de alimentos, específicamente en la industria láctea y de bebidas refrescantes, debido a que las estructuras de las betalaínas permiten soportar soluciones con un pH ácido (Moßhammer *et al.*, 2005 y 2006). Obón *et al.* (2009) aplicó un colorante obtenido de jugo de *Opuntia stricta* en yogurt y bebida refrescante, reportó que los alimentos presentaron una tonalidad rojo-púrpura muy atractiva para los consumidores, que no varió después de un mes de refrigeración.

Torres (2008) estudió la adición de micropartículas de compuestos biológicamente activos obtenidos de pulpa de tuna púrpura (*Opuntia ficus-indica*) en yogurt manteniendo un alto porcentaje de retención de betalaínas y un color púrpura intenso durante todo el periodo de estudio (30 días a 5°C).

3.-HIPÓTESIS

La microencapsulación por gelificación iónica interna de un extracto de betalaínas de betabel (*Beta vulgaris L.*), estabilizarán a estas moléculas y consecuentemente serán resistentes para su adición en una matriz alimenticia.

4.- OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Encapsular el extracto de betabel (*Beta vulgaris L.*) a través de una gelificación iónica para su aplicación en un jugo de manzana y un yogurt.

4.2 Objetivos específicos

1. Caracterizar la pulpa de betabel (*Beta vulgaris L.*) por análisis físicoquímicos.

2. Determinar el contenido de betalaínas totales presentes en el extracto de betabel por método un espectrofotométrico para estandarizar el contenido presente en la encapsulación.

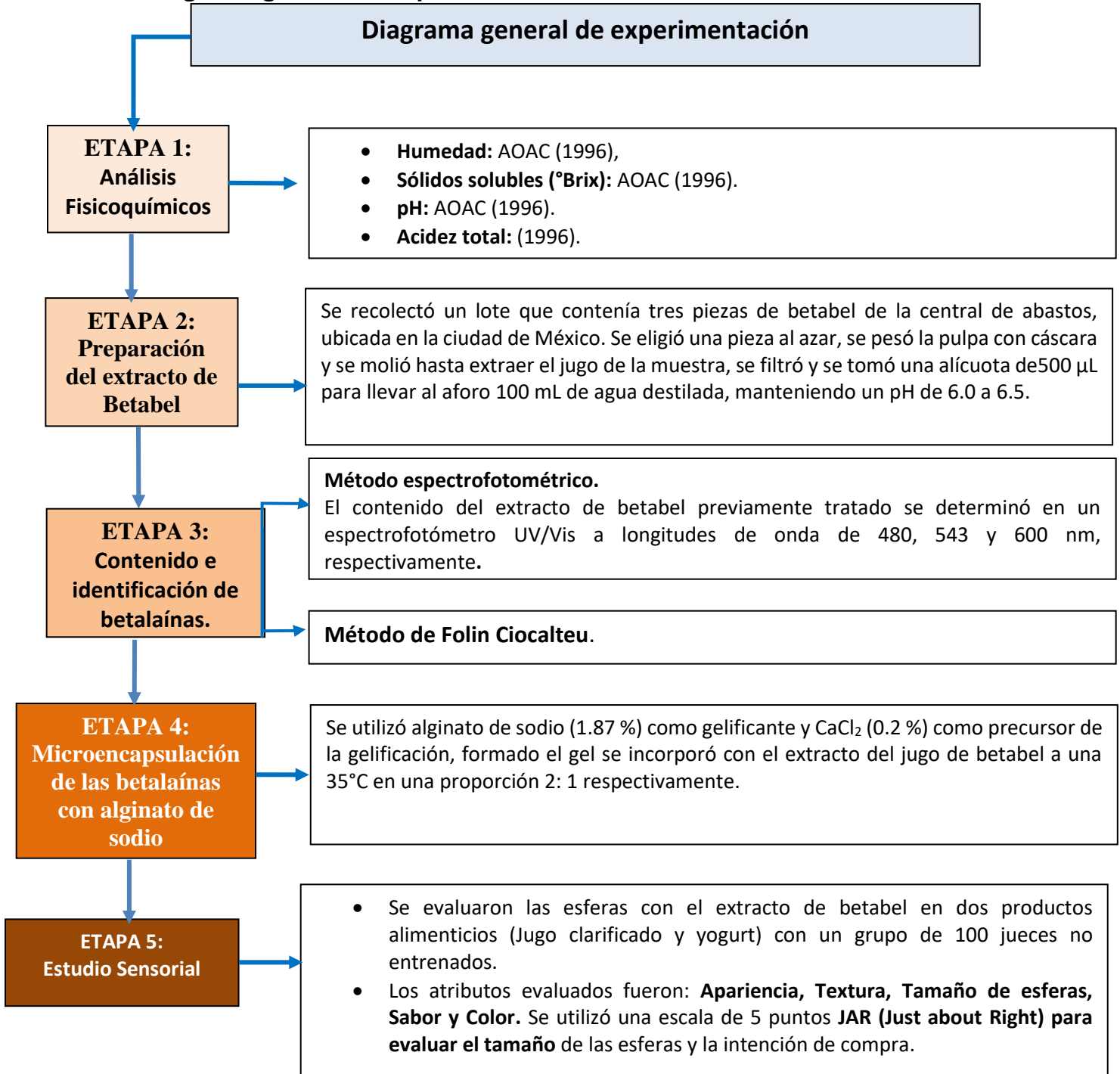
3. Determinar el contenido de polifenoles totales presentes en el extracto de betabel (*Beta vulgaris L.*). por el método *Folin-Ciocalteu*.

4.-Encapsular las betalaínas de un extracto de betabel (*Beta vulgaris L.*) utilizando una gelificación iónica (Alginato de sodio: CaCl₂) para conservar las propiedades antioxidantes y el color de las esferas formadas.

5. Adicionar las micropartículas con betalaínas en una matriz alimenticia y analizar la aceptación de los productos por el consumidor.

5. METODOLOGÍA

5.1 Diagrama general de experimentación



5.2 Análisis fisicoquímicos del extracto de betabel:

Los parámetros fisicoquímicos analizados por AOAC (1996) fueron:

Humedad: Se determinó con termobalanza pesando 0.528 g de muestra. **Sólidos solubles (°Brix):** Se determinó con un refractómetro. **pH:** Se determinó con un potenciómetro y **Acidez total.**

5.3 Determinación del contenido de betalaínas por espectrofotometría (Stintzing *et al.*, 2005)

Extracto de betabel: Se adquirió un lote que contenía tres piezas de betabel de la central de abastos, ubicada en la ciudad de México. Se eligió una pieza al azar, se pesó la pulpa con cáscara y se molió hasta extraer el jugo de la muestra, se filtró y almacenó en un envase de vidrio a temperatura de refrigeración por 24 h.

Contenido e identificación de betalaínas (betacianinas y betaxantinas):

La longitud de onda para identificar y medir las betacianinas fue de 535 a 550 nm y para las betaxantinas de 475 a 480 nm en el rango de luz visible, además se restó la lectura a 600 nm para eliminar estructuras isoméricas que interfieran en la cuantificación (Forni *et al.*, 1992; Delgado *et al.*, 2000; Castellar *et al.*, 2003; Allegra *et al.*, 2005; Sáenz, 2006).

Del jugo extraído se tomó una alícuota de 500 μ L y se aforó con 100 mL de agua destilada, manteniendo un pH de 6.0 a 6.5, para cuantificar el contenido total de betalaínas en un espectrofotómetro UV/Vis a longitudes de onda de 480, 543 y 600 nm, respectivamente de acuerdo al método espectrofotométrico descrito por Stintzing *et al.* 2002.

Contenido e identificación de betalaínas (betacianinas y betaxantinas) para el extracto frío:

Del lote adquirido se seleccionó al azar un betabel, se ralló y se sometió a un tratamiento térmico ($T = -5\text{ }^{\circ}\text{C}$, por 48 h): Posteriormente se molió para extraer el jugo, se tomó una alícuota de 500 μL y se aforó con 100 mL de agua destilada, manteniendo un pH de 6.0 a 6.5, para cuantificar el contenido total de betalaínas.

Determinación del Contenido de polifenoles totales: por el método de Folin Ciocalteu (Singleton y Rossi, 1965).

El contenido de polifenoles totales se determinó por el método de **Folin-Ciocalteu** con algunas modificaciones. Se tomó 500 μL de la alícuota (1/50) del extracto de betabel empleado en la determinación de Betalaínas y se colocaron en un tubo de ensaye. Se adicionaron 2.5 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu (0.2 N), transcurriendo 5 min se agregaron 2 mL de una solución de carbonato de sodio (Na_2CO_3 75g/L), se dejó reposar por 2 h en la oscuridad a temperatura ambiente y se realizó la lectura de absorbancia en el espectrofotómetro de UV/VIS a 760 nm, utilizando un blanco de reactivos.

A la par se realizó la curva de calibración de (0, 1, 2, 3, 4 y 5) mg/L a partir de una disolución de 0.1 g/L de ácido gálico. Los resultados obtenidos se expresaron en equivalentes de ácido gálico (Hatami, *et al*, 2014).

5.4 Microencapsulación de las betalaínas con alginato de sodio (Najafi-Soulari, *et al.*, 2016)

Se utilizó alginato de sodio (1.87%) como gelificante y CaCl_2 (0.2%) como precursor de la gelificación, el alginato de sodio fue disuelto en agua destilada a una temperatura de 90°C por 20 min, hasta espesar la disolución y formar un gel.

El gel formado se incorporó con el extracto del jugo de betabel empleado en la determinación de betalaínas a una temperatura de 35°C en una proporción 2:1 (gel: extracto). Se empleó una jeringa para formar las esferas, cada una contenía un volumen de 100 μL de la mezcla del gel con el extracto. Las esferas fueron

depositadas inmediatamente después de su formación en **CaCl₂** en una proporción **gel-CaCl₂1:1**. Se dejaron reposar por 20 min para obtener el mayor rendimiento posible (Najafi-Soulari, *et al.*, 2016).

5.5 Estudio Sensorial: (O'Mahony, 2002)

Se realizó con 100 jueces no entrenados en la Facultad de Química (41% hombres y 59% mujeres). En el rango de 20 a 55 años.

Se realizó un análisis sensorial afectivo con el fin de establecer el nivel de agrado o desagrado que puedan provocar las tres muestras experimentales:

- Un Jugo de manzana clarificado con esferas del extracto de betabel
- Un yogurt natural con esferas del extracto de betabel
- Y las esferas del extracto del betabel

Se utilizó la escala hedónica de 9 puntos que se muestra a continuación

Me Gusta Muchísimo	Me gusta Mucho	Me Gusta	Me Gusta Poco	Ni me gusta ni me disgusta	Me disgusta Poco	Me Disgusta	Me disgusta Mucho	Me disgusta Muchísimo
9	8	7	6	5	4	3	2	1

Los atributos evaluados fueron: Apariencia, textura, tamaño de esferas, sabor y color, en las 3 muestras experimentales codificadas con un número aleatorio de 3 dígitos.

Se utilizó una escala de 5 puntos JAR (Just About Right) para evaluar el tamaño de las esferas y conocer el tamaño ideal dictaminado por el consumidor.

Mucho más GRANDES de lo que me gusta	Más GRANDES de lo que me gusta	Justo como me gusta	Más PEQUEÑAS de lo que me gusta	Mucho más PEQUEÑAS de lo que me gusta
5	4	3	2	1

Para concluir el estudio se preguntó con una escala de 5 Puntos la intención de compra.

Definitivamente SI lo compraría	Probablemente sí lo compraría	Tal vez sí o tal vez no lo compraría	Probablemente NO lo compraría	Definitivamente No lo compraría
5	4	3	2	1

Finalmente se identificó la preferencia del consumidor en relación a las dos matrices alimenticias propuestas para incluir las esferas que contiene los antioxidantes del betabel.

Los ensayos se realizaron en un día y las muestras fueron evaluadas frías (5 °C). Las evaluaciones sensoriales se efectuaron en la Facultad de Química de la UNAM en la Ciudad de México. Los panelistas tenían un vaso con agua purificada para limpiar el paladar antes y después de la toma de la muestra, un plato con las tres muestras y la hoja para evaluar el atributo. En el Anexo 3 se muestra el cuestionario aplicado a los panelistas.

5.6 Análisis estadístico del estudio Sensorial: (O'Mahony, 2002)

Los análisis estadísticos se hicieron por el método de ANOVA y los análisis de varianza por el método de Tukey y Fisher con el software XLSTAT VERSIÓN 2016.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Análisis fisicoquímico del extracto del betabel (*Beta vulgaris* L.)

En la Tabla 4 se muestran los parámetros fisicoquímicos del betabel (*Beta vulgaris* L.) evaluados estuvieron dentro del rango reportado por otros autores en muestras de betabel (Sáenz y Sepúlveda, 2001; Piga, 2004; Stintzing *et al.*, 2005; Morales *et al.*, 2008; Sáenz *et al.*, 2009).

En la Tabla 4 se observa que el betabel (*Beta vulgaris* L.) al recibir un tratamiento térmico como lo es la congelación, no modifica pH y acidez. Esto se debe a que el proceso de congelación incrementa la conservación de alimentos, favorece la reducción significativa de la velocidad del crecimiento microbiano que modificarían a ambos parámetros (Singh, 2001).

Además, la disminución de la temperatura, ocasiona la reducción de la actividad enzimática y de las reacciones de oxidación, debido a la formación de cristales de hielo que modifican la disponibilidad del agua y evitan que se favorezcan las reacciones de deterioro (Singh, 2001). Sin embargo, las propiedades de humedad y sólidos solubles se modifican, debido a que los contenidos de cristales de hielo contenidos en los tejidos del betabel son liberados y aumentan la humedad (%) y disminuyen la cantidad de sólidos totales presentes la pulpa del betabel (*Beta vulgaris* L.).

Tabla 4. Características físicoquímicas del extracto de betabel (*Beta vulgaris L.*) con y sin tratamiento de congelación

Parámetro	Extracto de betabel (20 a 25°C, recién obtenido) Pulpa de betabel (<i>Beta vulgaris L.</i>) (X ± DE)	Extracto de betabel tratamiento de congelación (- 5 °C, 48 h) Pulpa de betabel (<i>Beta vulgaris L.</i>) (X ± DS)
Humedad (%)	85.8 ± 0.5	93.1 ± 0.9*
Sólidos solubles (°Brix a 20°C)	11.0 ± 0.3	10,6 ± 0.3
pH	6.15 ± 0.03 ^a	6.10 ± 0.01 ^a
Acidez (mg de ácido ascórbico/100 g muestra)	0.05 ± 0.001 ^a	0.05 ± 0.005 ^a

Nota: Valores promedio ± desviación estándar (n= 3)

Nota: Diferentes letras indican diferencia estadísticamente significativa con un nivel de confianza 95%

*La humedad del betabel congelado se determinó cuando la muestra fue atemperada

6.2 Contenido e identificación de betalaínas (betacianinas y betaxantinas)

En la Tabla 5 se observan los resultados para ambos extractos de betabel, el primero sin tratamiento térmico y el segundo con un tratamiento térmico de congelación (-5°C, 48 horas).

El contenido de betacianinas y betaxantinas obtenidos del extracto de betabel sin tratamiento térmico fueron de 3.99 ± 0.1 mg de equivalentes de ácido gálico/ g de pulpa seca y de 0.15 ± 0.05 mg de equivalentes de ácido gálico/ g de pulpa seca respectivamente siendo estos valores mayores a los informados por Vulic *et al.* (2012), (Tabla 5, pp. 37).

De igual manera el contenido de betacianinas y betaxantinas obtenidos del extracto de betabel con el tratamiento térmico de congelación fueron mayores a los reportados por Vulic *et al.* (2012), (Tabla 5): 3.56 ± 0.19 mg de equivalentes de ácido gálico/g de pulpa seca y 0.50 ± 0.08mg de equivalentes de ácido gálico/g de pulpa seca respectivamente.

Los resultados indican que el tratamiento térmico aplicado al betabel modifica el contenido de Betacianinas (Tabla 5), corroborando el efecto de la temperatura en estas moléculas (Tabla 5).

Las Betalaínas al ser sometidas a un tratamiento térmico se degradaron por isomerización y descarboxilación. El ácido betalámico y la indicaxantina son susceptibles a isomerización y la indicaxantina también es susceptible a epimerización en C11 (Herbach *et al.*, 2006).

En todos los casos predominaron las betacianinas sobre las betaxantinas, pigmentos característicos de frutos del betabel. Estas diferencias se pueden atribuir a factores como la temporada de cosecha, cultivo o variedad, madurez, clima y procedencia, entre otros, que afectan el contenido de betalaínas y polifenoles (Odoux y Domínguez, 1996; Stintzing, 2004; Sáenz, 2006; Miletic *et al.*, 2012).

Saenz 2006, reporta una variación entre el 10 y 20% mientras que Vulic *et al.*, 2012, reporta variaciones hasta del 90% de acuerdo a cultivos en diferentes zonas geográficas

Tabla 5. Caracterización y cuantificación de Betalaínas (Betacianinas y Betaxantinas) de extractos provenientes del betabel (*Beta vulgaris L.*) con y sin tratamiento de congelación

Tipo de Betalaína	Extracto de betabel (20-25°C, 0 h) Concentración: mg de equivalentes de ácido gálico/ g de pulpa seca (X ± DE)	Extracto de betabel tratamiento de congelación (- 5 °C, 48 h) Concentración: mg de equivalentes de ácido gálico/ g de pulpa seca (X ± DS)
Betacianina	3.99 ± 0.1 ^a	3.56 ± 0.19 ^b
Betaxantina	0.15 ± 0.05 ^a	0.50 ± 0.08 ^b

Nota: Valores promedio ± desviación estándar (n= 3)

.Nota: Diferentes letras indican diferencia estadísticamente significativa con un nivel de confianza 95%

6.2.1 Determinación del Contenido de polifenoles totales: por el método de Folin Ciocalteu.

El color rojo intenso del betabel se deriva de altas concentraciones de Betalaínas y cantidades menores de ácidos hidroxicinámicos tales como ácidos gálicos, ascórbico, cafeico y flavonoides (Kazimierczak *et al.*, 2014). Por tal motivo se determinó el contenido de polifenoles totales por el método de **Folin Ciocalteu (método AOAC)**. La curva patrón fue realizada con ácido gálico (Anexo 2).

El contenido de polifenoles totales se determinó solo para el extracto de betabel sin tratamiento térmico de congelación debido a que en la determinación de betalaínas se observó degradación significativa, el resultado obtenido fue de: 461 ± 0.44 mg de equivalentes de ácido gálico/L.

La concentración obtenida fue menor al descrito por Stintzing *et al.* (2005) reportado como 560 mg de equivalentes de ácido gálico/L y por Sáenz *et al.* (2009) el cual reporta 809,47 mg de equivalentes de ácido gálico/L, de igual manera esta diferencia se puede atribuir a factores como la temporada de cosecha, cultivo o variedad, madurez, clima y procedencia, entre otros, que afectan el contenido de betalaínas y polifenoles totales (Odoux y Domínguez-López, 1996; Stintzing y Sepúlveda *et al.*, 2003; Carle, 2004; Sáenz, 2006; Miletic *et al.*, 2012).

6.3 Microencapsulación de las betalaínas con alginato de sodio

Para elegir al agente encapsulante se tomaron en cuenta las siguientes características: solubilidad en agua, permeabilidad, facilidad de aplicación, baja viscosidad en soluciones concentradas e inocuidad para su consumo (no tóxico) y costos (Gibbs *et al.*, 1999).

La viscosidad de las soluciones de alginatos depende de la longitud de las moléculas, en cuanto mayor sea la longitud de las cadenas, más alta será la viscosidad. Al disolverse en agua las moléculas se hidratan y aumentan la viscosidad. En una solución ácida el alginato formará un gel ya que a pH bajo (3-4) los grupos carboxílicos de los ácidos urónicos aceptan protones, favoreciendo la

formación de un gel de alta viscosidad, incrementando la disminución de solubilidad del ácido algínico libre, precipitando en forma de gel (Lupo *et al.*, 2012)

Al encapsular el extracto de betabel con el alginato de sodio y posteriormente incorporar las esferas formadas a las matrices alimenticias podremos asegurar que las esferas serán estables a la acidez que presenten el yogurt y el jugo (pH: 3 a 4).

Se determinó la cantidad total de betalaínas (Betacianinas y Betaxantinas) y de polifenoles totales presentes en las esferas con volumen de 100 μ L. En la Tabla 6 y 7 se indican los valores de las concentraciones de betalaínas y polifenoles totales. Los valores determinados fueron de: 3.92 ± 0.30 mg de equivalentes de ácido gálico/g de pulpa seca. y 458 ± 0.89 mg de equivalentes de ácido gálico/L respectivamente.

Se determinó el rendimiento total de las betalaínas y polifenoles en el proceso de encapsulamiento logrando el 94.6% y 99.4% de rendimiento respectivamente. Esto se debe a que el agente encapsulante inmoviliza y aísla del ambiente a las moléculas que están dentro de esa matriz. El gel compuesto evita que las betacianinas se liberen ya que su tamaño es mayor (PM = 550 g/mol) que la red de alginato, mientras que las Betaxantinas al ser moléculas más pequeñas (PM = 380 g/mol) es factible que puedan salir de la red, provocando un menor rendimiento (Nazzaro *et al.*, 2009).

Tabla 6. Caracterización y cuantificación de microcápsulas de Betalaínas (Betacianinas y Betaxantinas) de un extracto proveniente del betabel (*Beta vulgaris* L.)

Extracto de betabel (20-25°C, 0 h)			
Tiempo (días)	Tipo de Betalaína	Concentración: mg de equivalentes de ácido gálico/ g de pulpa seca ($\bar{X} \pm DE$)	Rendimiento del proceso
Día 1	Betacianina	3.79 ± 0.23	94.9%
	Betaxantina	0.13 ± 0.34	84.6%
	Betalaínas totales	3.92 ± 0.30	94.6%
Día 20	Betacianina	3.31 ± 0.43	87.7%
	Betaxantina	0.08 ± 0.64	63.6%
	Betalaínas totales	3.40 ± 0.56	67.0 %

Nota: Valores promedio \pm desviación estándar (n= 3)

Tabla 7. Contenido de Polifenoles totales en microcápsulas de un extracto proveniente del betabel (*Beta vulgaris L.*)

Extracto de betabel (20-25°C, 0 h)			
Tiempo (días)	Tipo de Betalaína	Concentración: mg de equivalentes de ácido gálico/L (X ± DS)	Rendimiento del proceso
Día 1	Polifenoles totales	458 ± 0.89	99.94 %
Día 20	Polifenoles totales	330 ± 0.76	84.04 %

Nota: Valores promedio ± desviación estándar (n= 3)

Al comparar el rendimiento del encapsulamiento de las betalaínas, y el contenido total de las betalaínas provenientes del extracto, se observa en la Tabla 8 que las betacianinas fueron más impermeables que las betaxantinas y por ende el rendimiento fue alto, sin embargo no se descarta la existente degradación de las betaxantinas y de las betalaínas en general desde micropartículas, ya que puede ocurrir principalmente por una hidrólisis (Herbach *et al.*, 2006), produciéndose una ruptura del enlace aldimina de la betanina formando ácido betalámico y ciclo dopa (reacción reversible) (**Figura 6, pp 19**).

La fuerza del gel fue un factor importante para evitar que las moléculas de las betacianinas se escaparan. La fuerza depende del número de enlaces cruzados formados, del tipo de reticulación iónica y de la longitud de la rigidez de los bloques entre los enlaces, los geles que presentan una fuerza alta exhiben una porosidad mayor. Los que presentan un gel de fuerza media presentan mayor resistencia a la sinéresis porque los poros son más pequeños (Hernández *et al.*, 2005).

Adicionalmente se observa que, al transcurrir 20 días, las Betalaínas se degradan por diferentes vías (**Figura 6, pp 19**) por lo que existe una pérdida del 33% identificado por el método espectrofotométrico y 26% en el método de polifenoles totales (**Folin Ciocalteu**) en la concentración de betalaínas contenidas en las esferas del extracto de betabel.

Tabla 8. Determinación del contenido y rendimiento de los compuestos fenólicos presentes en un extracto proveniente del betabel (*Beta vulgaris L.*)

Extracto de betabel (20-25°C, 0 h)			
Compuesto fenólico analizado	Concentración en el extracto: mg de equivalentes de ácido gálico/ g de pulpa seca (X ± DE)	Concentración en la microcápsula de alginato: mg de equivalentes de ácido gálico/ g de pulpa seca (X ± DE)	Rendimiento del proceso de encapsulamiento
Betacianina	3.99 ± 0.10	3.79 ± 0.23	94.9%
Betaxantina	0.15 ± 0.05	0.13 ± 0.34	84.6%
Betalaínas totales	4.14 ± 0.19	3.92 ± 0.30	94.6%
Compuesto fenólico analizado	Concentración en el extracto: mg de equivalentes de ácido gálico/ L (X ± DS)	Concentración en la microcápsula de alginato: mg de equivalentes de ácido gálico/ L (X ± DS)	Rendimiento del proceso de encapsulamiento
Polifenoles totales	458 ± 0.44	458 ± 0.89	99.94%

Nota: Valores promedio ± desviación estándar (n= 3)

Debido a estas reacciones de degradación se recomienda que al incorporar las esferas de betalaínas a una matriz alimenticia, que el alimento se mantenga en las siguientes condiciones: No ser expuesto a la luz y a altas temperaturas (>35°C).

6.4 Estudio sensorial

Se realizó un análisis sensorial afectivo con el fin de establecer el nivel de agrado o desagrado de 3 muestras experimentales, las cuáles fueron: las esferas que contenían el extracto betabel, Un jugo clarificado con esferas que contenían el extracto de betabel y un yogurt natural sin sabor con esferas que contenían el extracto de betabel (**Figura 8 y 9**).

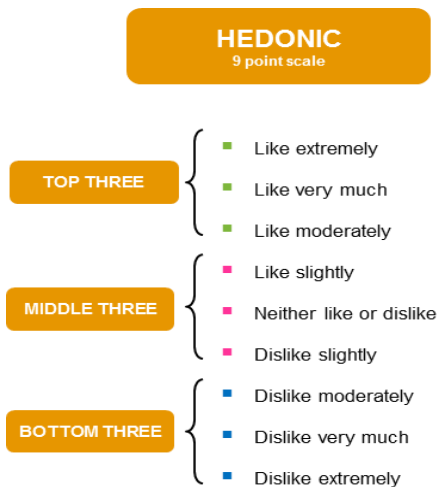


Figura 8: Fotografía de la esfera con extracto de betabel



Figura 9: Fotografía de las muestras que fueron evaluadas en orden de izquierda a derecha

Se utilizó una escala hedónica de 9 puntos la cual se dividió en 3 partes, para obtener una mejor apreciación de los atributos evaluados por el consumidor (Figura



10) para identificar la preferencia del consumidor en las aplicaciones, contribuirá al mejor entendimiento del estudio sensorial. (Figura 9) de los prototipos evaluados, así como su intención de compra de cada muestra.

Las muestras se evaluaron a una T de 5°C.

Figura 10: Segmentación de la escala hedónica en 3 (O'Mahony 2002)

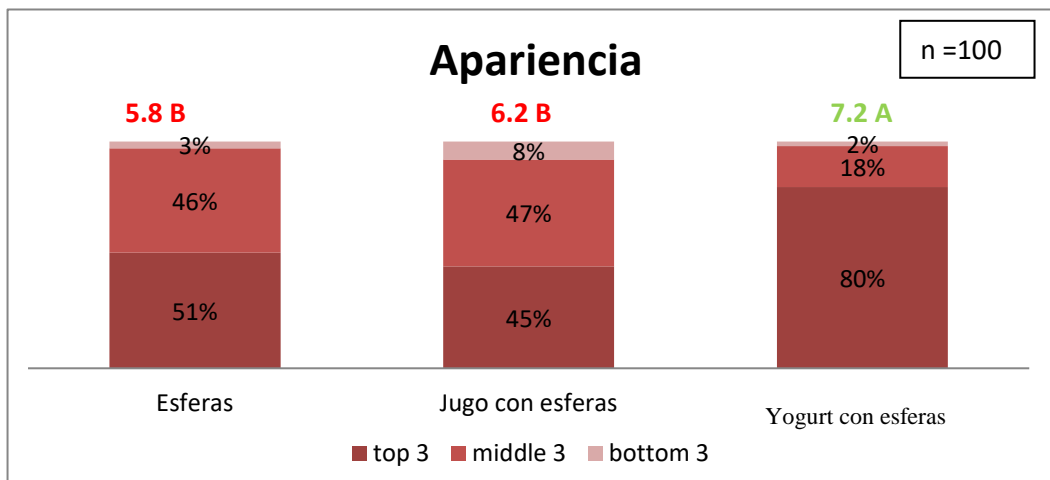
El 100% de los panelistas no entrenados tenían conocimiento en lo que consistía un alimento funcional y el 98% de dichos evaluadores consumían en su dieta alimentos con antioxidantes, entre los más mencionados: Café (38%), frutos rojos (29%), verduras (23%) y frutas (17%).

6.4.1 Apariencia

Al evaluar la apariencia de las tres muestras experimentales de acuerdo a los datos obtenidos, se realizó una ANOVA, seguido de un análisis de Tukey. Se identificó que existe diferencia estadísticamente significativa entre las esferas solas y la matriz alimenticia de yogurt con esferas junto con la matriz alimenticia del jugo con esferas (Gráfico 1).

De acuerdo a la segmentación de la escala hedónica al evaluar el nivel de agrado o desagrado en la apariencia de las 3 muestras experimentales se determinó que el yogurt con esferas fue el mejor evaluado. El promedio de la calificación dada por el consumidor fue de 7.2 (me gusta) seguido del jugo con esferas 6.2 (me gusta poco) y las esferas 5.8 (me gusta poco) Gráfico 1.

Gráfico 1: Resumen de las comparaciones por pares: APARIENCIA (Tukey)



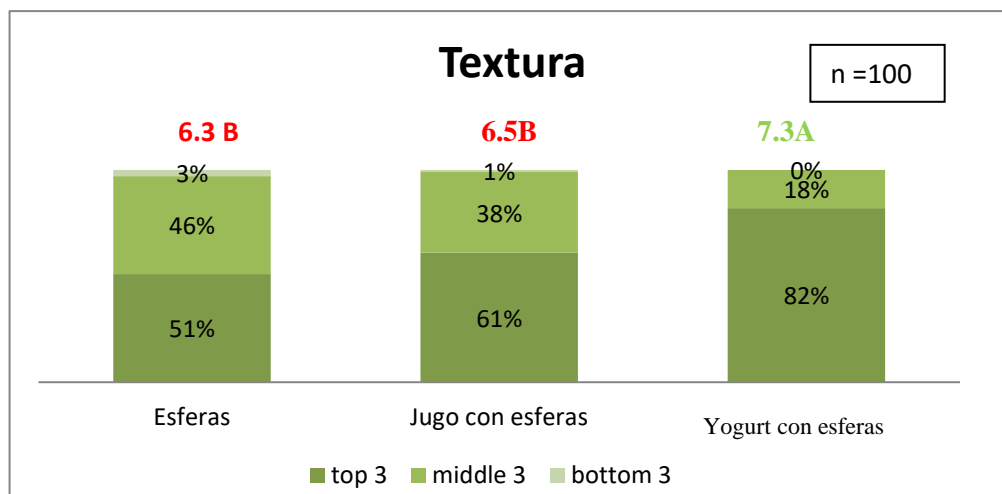
Nota: Diferentes letras indican diferencia estadísticamente significativa con un nivel de confianza 95%

6.4.2 Textura

Al evaluar el nivel de agrado o desagrado en el atributo Textura de las tres muestras experimentales se determinó que el yogurt con esferas fue el mejor evaluado, debido a que se esperaba que la textura de las esferas (consistencia semi-sólida, característica del alginato) fuera similar a la textura del yogurt. El promedio de la calificación dada por el consumidor fue de 7.3 (me gusta) seguido del jugo con esferas 6.5 (me gusta y las esferas 6.3 (me gusta poco). (Gráfico 2), considerando estos resultados, las esferas podrían incorporarse al yogurt ya que es del agrado del consumidor y en un jugo, quizás en uno no clarificado para que resalte mejor este atributo.

Se identificó que existe una diferencia estadísticamente significativa entre la matriz alimenticia de yogurt con esferas y la matriz alimenticia aplicada en el jugo y las esferas solas de acuerdo a la ANOVA analizada por el método de Tukey (Gráfico 2). Las esferas de alginato son estables a las condiciones de acidez de las matrices alimenticias, por lo tanto, no interfieren en la modificación de la textura del alimento.

Gráfico 2: Resumen de las comparaciones por pares: TEXTURA (Tukey)

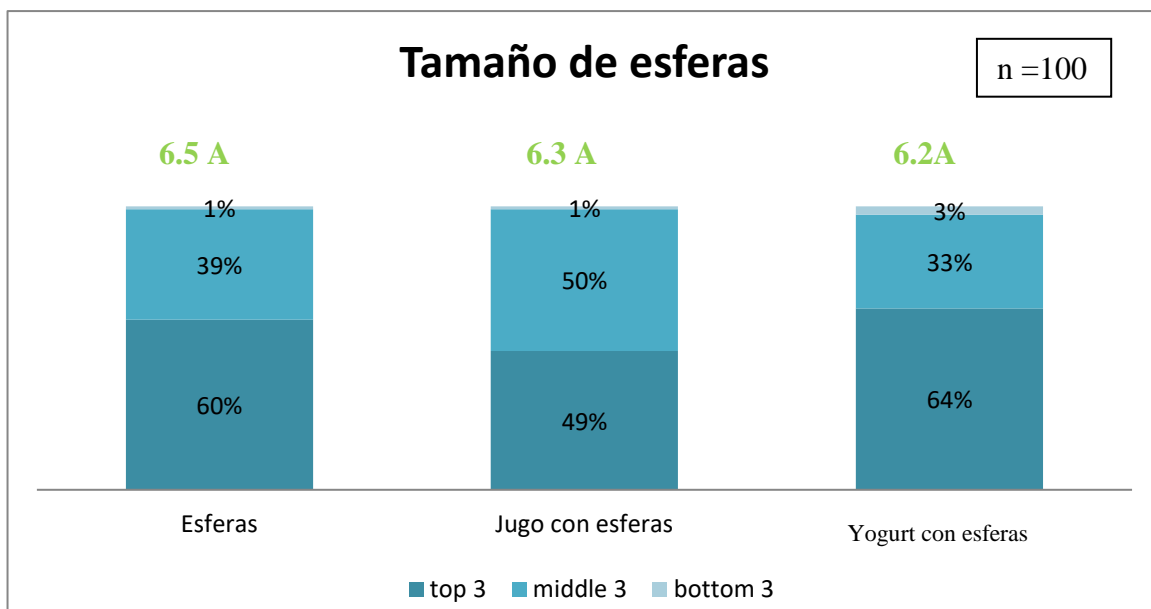


Nota: Diferentes letras indican diferencia estadísticamente significativa con un nivel de confianza 95%

6.4.3 Tamaño de esfera

Se realizó una ANOVA analizando las varianzas por el método de Tukey en donde se identifica que NO hubo una diferencia estadísticamente significativa entre las tres muestras experimentales en el atributo tamaño de esfera (*Gráfico 3*). De acuerdo a la segmentación de la escala hedónica al evaluar el nivel de agrado o desagrado sobre el tamaño de las esferas se determinó que las 3 muestras experimentales presentan un ligero agrado (me gusta poco). Este resultado indica que el tamaño de esfera podría ser modificado y así podría ser de mayor agrado para el consumidor, también se observa que, aunque las esferas no fueron elaboradas con un equipo de aspersión, el tamaño de la esfera no fue afectado por la metodología utilizada.

Gráfico 3: Resumen de las comparaciones por pares: TAMAÑO DE ESFERAS (Tukey)



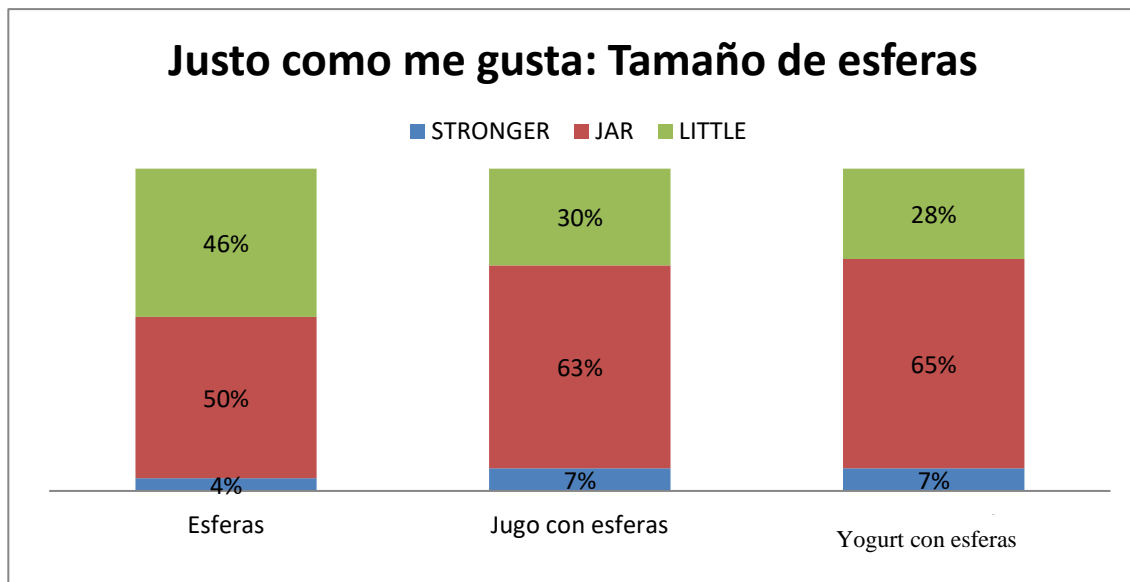
Nota: Diferentes letras indican diferencia estadísticamente significativa con un nivel de confianza al 95%

El consumidor expresó un me gusta poco al tamaño de las esferas en las tres propuestas experimentales, en el estudio por medio de la metodología JAR se identificó el tamaño ideal para las esferas en cada matriz alimenticia.

Las esferas sin matriz alimenticia presentaron el 50 % de conformidad con el tamaño ideal, el 63% para la matriz del jugo y el 65% para el yogurt, Denotando que el consumidor en las tres muestras penalizó el tamaño de las esferas indicando que

eran más pequeñas de lo que hubieran preferido, El 46% de los consumidores se posicionó a favor de incrementar el tamaño en las esferas solas, el 30 % indicó incrementar el tamaño de esferas en el jugo y el 28% en el yogurt, *Gráfico 4* cabe destacar que para las tres muestras experimentales el volumen de las esferas fue el mismo.

Gráfico 4: Resumen de las comparaciones por pares: TEXTURA



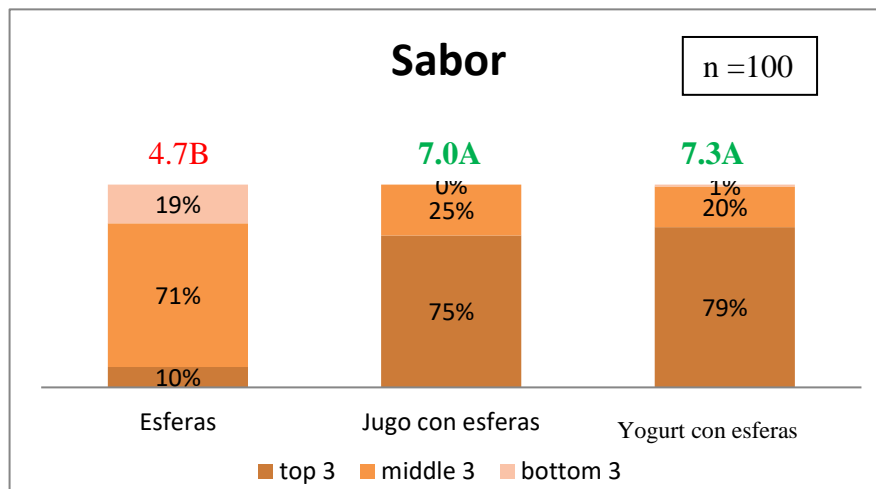
Nota: n = 100

6.4.4 Sabor

De acuerdo al análisis estadístico se identifica diferencia significativa entre las matrices alimenticias de yogurt y jugo y las esferas solas, *Gráfico 5*. De acuerdo a la segmentación de la escala hedónica al evaluar el nivel de agrado o desagrado en el sabor de las tres muestras experimentales se determinó que el yogurt (natural sin sabor) con esferas fue el mejor evaluado, demostrando una compatibilidad entre el ligero sabor que pueda presentar la esfera y el yogurt natural, el promedio de la calificación dada por el consumidor fue de 7.3 (Me gusta), 7.0 (Me gusta) para el jugo con esferas, de igual manera existe una aceptación entre el sabor del jugo y el sabor de las esferas y 4.7 (Ni me gusta ni me disgusta) para las esferas, representando neutralidad entre el gusto y disgusto de sabor que pueda proporcionar la esfera por sí sola (*Gráfico 2*).

Los resultados obtenidos indican que las esferas al ser incorporados en una matriz alimenticia generan una mejor calificación en el atributo de sabor del producto que por sí solas.

Gráfico 5: Resumen de las comparaciones por pares: SABOR (Tukey)

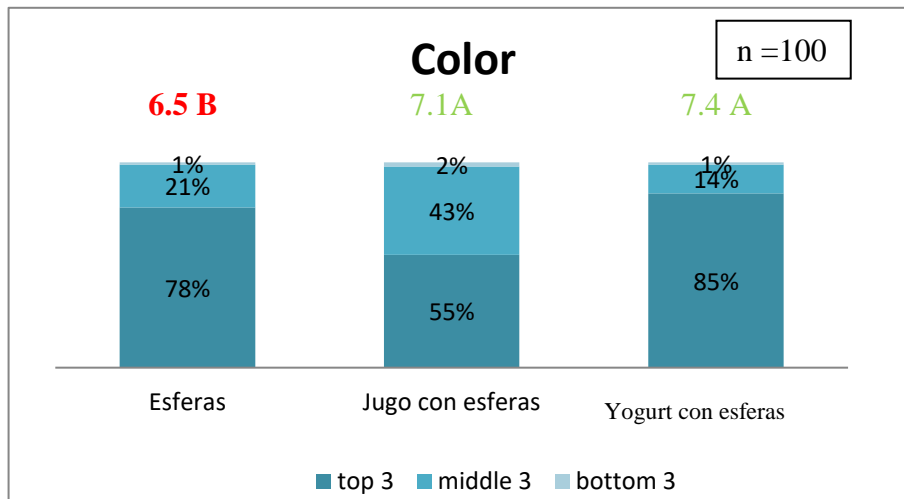


Nota: Diferentes letras indican diferencia estadísticamente significativa con un nivel de confianza al 95%

6.4.5 Color

Se realizó una ANOVA para evaluar el color, se identificó que hay diferencia estadísticamente significativa entre las matrices alimenticias de yogurt y el jugo con esferas y las esferas solas *Gráfico 6*. De acuerdo a la segmentación de la escala hedónica al evaluar el nivel de agrado o desagrado en el color de las tres muestras experimentales se determinó que el yogurt con esferas fue el mejor evaluado, debido a que el color natural de las esferas daba una ligera pigmentación al yogurt, por lo que es probable que este atributo resalte en el yogurt, si el sabor fuera relacionado a frutos rojos. En cuanto al jugo no clarificado la degradación de las betalaínas que llegaron a sufrir las esferas no serían visibles debido a la naturaleza y el color del jugo.

Gráfico 6: Resumen de las comparaciones por pares: COLOR (Tukey)



Nota: Diferentes letras indican diferencia estadísticamente significativa con un nivel de confianza al 95%

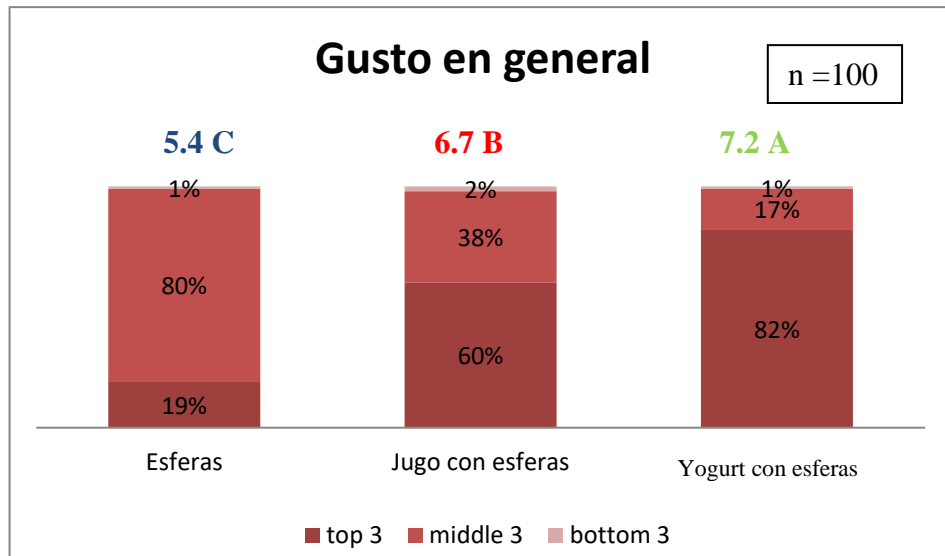
6.4.6 Nivel de agrado en general

Al evaluar el conjunto de todos los atributos ya mencionados se realizó una pregunta final, denominado nivel de agrado. En donde se identifica que existe una diferencia estadísticamente significativa entre las tres muestras experimentales *Gráfico 7*.

De acuerdo a la segmentación de la escala hedónica al evaluar el nivel de agrado o desagrado en general de cada prototipo se determinó que el yogurt y el jugo con esferas fueron “bien evaluados” el promedio de la calificación dada por el consumidor fue de 7.2 (Me gusta), 6.7 (Me gusta) respectivamente y 5.4 (Ni me gusta ni me disgusta) para las esferas *Gráfico 7*.

Las esferas al contener betalaínas proporcionaban pigmentación en las matrices alimenticias en un tono rojo/rosa dependiendo de la matriz alimenticia, y de acuerdo al resultado obtenido esa pigmentación era del agrado del consumidor, además el pigmento es de origen natural, generando más interés y valor agregado al producto.

Gráfico 7: Resumen de las comparaciones por pares: Gusto en general (Tukey)



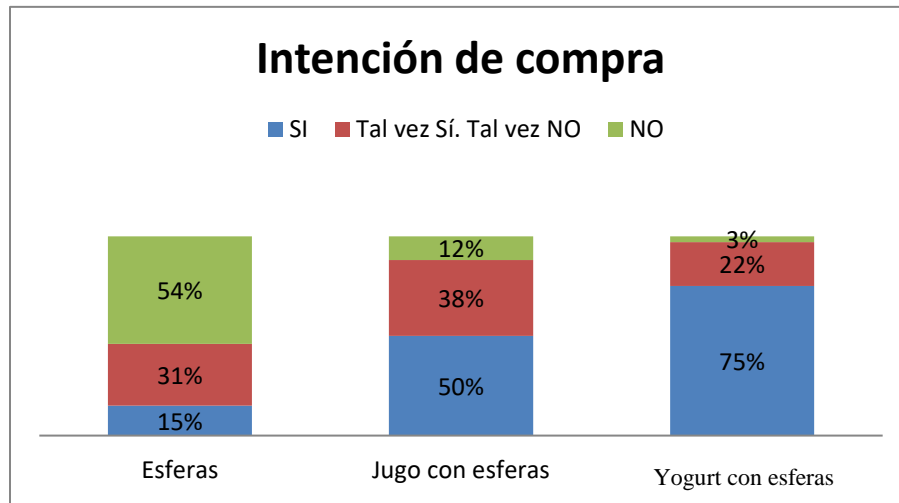
Nota: Diferentes letras indican diferencia estadísticamente significativa con un nivel de confianza al 95%

7.4.7 Intención de Compra

Se analizó la preferencia de acuerdo a las tres muestras experimentales presentadas al consumidor, el yogurt con esferas representó el 75% de declaración que, Si comprarían el producto, siendo el prototipo por encima del resto de las otras dos muestras. El jugo con esferas obtuvo el 50 % de una intención de compra y las esferas solas un 15%. *Gráfico 8.* Los consumidores expresaron que el yogurt y las esferas en una sola matriz tenían una mejor apariencia y juego de texturas más agradables.

Los datos obtenidos son de carácter declarativo por parte del consumidor que evaluaron los prototipos y, por tanto, no corresponderían a las ventas reales.

Gráfico 8: Porcentaje de la intención de compra de los tres prototipos

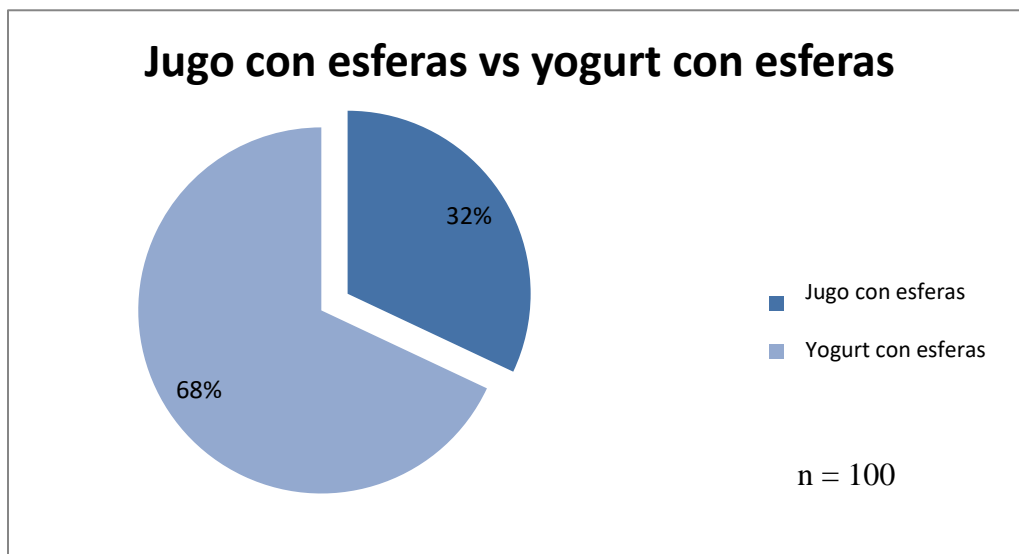


Nota: n =100

Al conocer la intención de compra de las muestras experimentales, también se obtuvo la información sobre la preferencia del consumidor a cerca de las dos matrices alimenticias existentes: El jugo y el yogurt.

El resultado fue contundente, los consumidores prefirieron con el 68% al prototipo que contenía yogurt sobre el prototipo del jugo *Gráfico 9*.

Gráfico 9: Porcentaje de la preferencia de las dos matrices alimenticias en las cuáles se aplicó las esferas con betalaínas



En general al evaluar todos los atributos (Apariencia, textura, tamaño de esferas, sabor, color) los consumidores prefieren al yogurt como matriz alimenticia para incorporar las esferas con el extracto de betabel ya que se logra enmascarar algún resabio del betabel y va de acuerdo con la textura del producto, además asociaron este producto a una línea de alimentos más saludable e innovador.

7.- CONCLUSIONES

- ❖ El consumo de fitoquímicos con propiedades antioxidantes presentes en frutas y verduras incluidos en la dieta diaria, aportan nutrientes indispensables para el buen funcionamiento metabólico.
- ❖ Se caracterizaron los parámetros fisicoquímicos de la pulpa de betabel (*Beta vulgaris* L.) y existieron diferencias significativas debido a la zona geográfica donde se cultive el Betabel.
- ❖ El contenido de polifenoles totales disminuyó con el tratamiento de congelación por 48 h en un 11% con respecto al contenido presente en el jugo recién prensado (458 ± 0.89 mg de equivalentes de ácido gálico/L).
- ❖ El rendimiento de las betacianinas y betaxantinas en microcápsulas de un extracto de betabel (*Beta vulgaris* L.) fue de 94.9%, y 84.6% respectivamente, transcurridos 20 días la degradación presentada fue de 30%.
- ❖ Se encapsularon las betalaínas de un extracto de betabel (*Beta vulgaris* L.) utilizando una gelificación iónica, (Alginato de sodio: CaCl_2) Se obtuvieron rendimientos mayores al 85% con las concentraciones propuestas y la preservación de dichas moléculas para su incorporación en matrices alimenticias.
- ❖ Las micropartículas obtenidas en este estudio podrían ser aplicadas para diseñar alimentos funcionales debido a su actividad antioxidante en la industria de alimentos debido a su alta estabilidad y solubilidad.
- ❖ En el estudio sensorial realizado, los consumidores prefirieron el yogurt como matriz alimenticia para incorporar las esferas, ya que era el producto que tenía la mejor Apariencia, Textura, Color y Sabor, además que les resultaba ser un producto innovador.

8.-BIBLIOGRAFÍA

Anal, A. and H. Singh. 2007. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery: a review. *Trends in Food Science and Technology* 18(5): 240-251.

Allegra, M., Furtmuller, P., Jantschko, W., Zederbauer, M., Tesoriere, L., Livrea, M. y Obinger, C. 2005. Mechanism of interaction of betanin and indicaxanthin with human myeloperoxidase and hypochlorous acid. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **332**, 837–844.

Anjani, K., K. Kailasapathy and M. Phillips. 2006. Microencapsulation of enzymes for potencial application in acceleration of cheese ripening. *International Dairy Journal* 17(1): 79-86.

Araneda, C. y F. Valenzuela. 2009. Microencapsulación de extractantes: una metodología alternativa de extracción de metales. *Revista Ciencia Ahora* 22(11): 9-19.

Areletol, E. 2009. Bioavailability of nanoparticles in nutrient and nutraceutical delivery. *Current Opinion in Colloid and Interface Science* 14(1):3–15.

Astolfi, Z., A. Souza, E. Reipert and V. Telis. 2005. Encapsulation of passion fruit juice by co-crystallization with sucrose: crystallization kinetics and physical properties. Bertolini, A., A. Siani and R. Grosso. 2001. Stability of monoterpenes encapsulated in gum arabic by spray-drying. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49(2): 780-785.

Astray, G., J. Mejuto, R. Rial, C. González and J. Simal. 2009. A review on the use of cyclodextrins in foods. *Food Hydrocolloids* 23(7): 1631-1640.

Attoe, E.L. y von Elbe, J.H. 1981. Photochemical degradation of betanine and selected anthocyanins. *Journal of Food Science* **46**, 1934–1937.

Attoe, E.L. y von Elbe, J.H. 1982. Degradation kinetics of betanine in solutions as influenced by oxygen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **30**, 708–712.

Attoe, E.L. y von Elbe, J.H. 1985. Oxygen involvement in betanine degradation: effect of antioxidants. *Journal of Food Science* **50**, 106– 110.

Azeredo, H.M.C. 2008. Betalains: properties, sources, applications, and stability – a review. *International Journal of Food Science & Technology* **44**, 2365–2376.

Azeredo, H.M.C., Santos, A.N., Souza, A.C.R., Mendes, K.C.B. y Andrade, M.I.R. 2007. Betacyanin stability during processing and storage of a microencapsulated red beetroot extract. *American Journal of Food Technology* **2**, 307–312. 68

Bouic P.J. 2001. The role of phytosterols and phytosterolins in immune modulation: a review of the past 10 years. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 4(6): 471-475.

Bouwmeester, H., S. Dekkers, M. Noordam, W. Hagens, A. Bulder, S. Voorde, S. Wijnhoven and H. Marvin. 2009. Review of health safety aspects of nanotechnologies in food production. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 53(1): 52–62.

Butera, D. Tesoriere, L. Di Gaudio, F. Bongiorno, A. Allegra, M. y Pintaudi, A. M. 2002. Antioxidant activities of sicilian prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit extracts and reducing properties of its betalains: Betanin and indicaxanthin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50**, 6895–6901.

CANACA, 2015, disponible en: <https://www.siem.gob.mx/siem/> (consultado en Marzo, 2017)

Corke, H. 1998. Production and properties of spray-dried *Amaranthus* betacyanin pigments. *Journal of Food Science*. **65**, 1248– 1252.

Cai, Y., Sun, M. y Corke, H. 2003. Antioxidant activity of betalains from plants of the Amaranthaceae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**, 2288-2294.

Cai, Y., Sun, M. y Corke, H. 2005. Characterization and application of betalain pigments from plants of the Amaranthaceae. *Trends in Food Science & Technology* **16**, 370–376.

Camara. 2003. Antioxidant health effects of aged garlic extract. *Journal of Nutrition*, 131 (3S): 1010S–1015S.

Castellar, M.R., Obón, J.M. y Fernández-López, J.A. 2006. The isolation and properties of a concentrated red-purple betacyanin food colourant from *Opuntia stricta* fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **86**, 122-128.

Castellar, M.R., Obón, J.M., Alacid, M. y Fernández-López, J.A. 2003. Color properties and stability of betacyanins from *Opuntia* fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**, 2772-2776.

Czapski, J. 1990. Heat stability of betacyanins in red beet juice and in betanin solutions. *European Food Research and Technology* **191**, 275–278.

Delgado-Vargas, F., Jimenez, A.R. y Paredes-Lopez, O. 2005. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains characteristics, biosynthesis, processing, and stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **40**, 173–289.

Desai, H y Park, H. 2005. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying Technology* **23**, 1361-1394.

Díaz, F., Santos, E.M., Filardo, S., Villagómez, R. y Scheinvar, L. 2006. Colorant extraction from a red prickly pear (*Opuntia lasiacantha*) for food application. *Electronic Journal Environmental, Agricultural and Food Chemistry* **5**, 1330– 1337.

Dominguez, D.A., Fett, R. y Bordignon-Luiz, M.T. 1996. Avaliacao da estabilidade de betalainas em extrato de beterraba (*Beta vulgaris* L.) com a-, b- e c-ciclodextrinas. *Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos* **24**, 259–276.

Fabra, C., A. Santana, E. Monterrey, M. Trindade and F. Netto. 2009. The use of spray drying technology to reduce bitter taste of casein hydrolysate. *Food Hydrocolloids* **24**(4): 336-340.

Fernández, D., M. Gómez, D. Ramos, y N. González. 2001. Métodos de obtención de microesferas biodegradables, <http://www.uh.cu/centros/biomas/Congresos/biomas99/PII24.pdf>; consulta: febrero 2017.

Fernández-López, J. y Almela, L. 2001, Application of high-performance liquid chromatography to the characterization of the betalain pigments in prickly pear fruits. *Journal of Chromatography A* **913**, 415–420. 71

Fernández-López, J., Castellar, R., Obón, J.M. y Almela, L. 2002, Screening and Mass-Spectral Confirmation of Betalains in Cactus Pears. *Chromatographia* **56**, 591-595.

Ferreira, I., S. Rocha and M. Coelho. 2007. Encapsulation of antioxidants by spray-drying. *Chemical Engineering Transactions* **11**: 713-717.

Forni, E., Polesello, A., Montefiori, D. y Maestrelli, A. 1992. Highperformance liquid chromatographic analysis of the pigments of blood-red prickly pear (*Opuntia ficus-indica*). *Journal of Chromatography* **593**, 177-183.

Fuchs, M., C. Turchiuli, M. Bohin, M. Cuvelier, C. Ordonnaud, M. Peyrat and E. Dumoulin. 2006. Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidized bed agglomeration. *Journal of Food Engineering* **75**(1): 27-35.

Gandía-Herrero, F., Jiménez-Atienzar, M., Cabanes, J., García-Carmona, F., y Escribano, J. 2010. Stabilization of the Bioactive Pigment of *Opuntia* fruits through maltodextrin encapsulation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58**, 10646-10652.

Gaumer, G., M. González, M. Ochoa y H. Medrano. 2004. Microencapsulación del jugo de cebada verde mediante secado por aspersion. *Revista Ciencia y Tecnología Alimentaria* **4**(4): 262-266.

- Gentile, C., Tesoriere, L., Allegra, M., Livrea, M.A. y D'Alessio, P. 2004. Antioxidant betalains from Cactus Pear (*Opuntia ficus-indica*) inhibit endothelial ICAM-1 expression. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1028**, 481–486.
- Gibbs, B., Kermasha, S., Alli, I. y Mulligan, C. 1999. Encapsulation in the food industry: a review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* **50**, 213-224.
- Gylling H., Miettinen T.A. 2005. The effect of plant stanol and sterol enriched foods on lipid metabolism, serum lipids and coronary heart disease. *Annals of Clinical Biochemistry*, 42(Pt 4):254-253.
- Hatami C.H. 2003. Dietary supplements and functional foods: 2 sides of a coin? *The American Journal of Clinical Nutrition*, 77(Suppl):1001S-1007S.
- Harris X., Fahey J.W., Scholtus I., Lozniewski A. 2003. Evaluation of the antimicrobial effects of several isothiocyanates on *Helicobacter pylori*. *Planta Medica*, 71(4): 326-330.
- Heidebach, T., P. Forst and U. Kulozik. 2010. Microencapsulation of probiotic cells by means of rennet-gelation of milk proteins. *Food Hydrocolloids*. 23(7): 1670-1677.
- Herbach, K.M., Stintzing, F.C. y Carle, R. 2004. Impact of thermal treatment on color and pigment pattern of red beet (*Beta vulgaris* L.) preparations. *Journal of Food Science* **69**, C491-498.
- Herbach, K.M., Stintzing, F.C. y Carle, R. 2006. Betalain stability and degradation – structural and chromatic aspects. *Journal of Food Science* **71**, R41–R50.
- Hernández E. M., López G. Y. R. y García P. A. 2005. Evaluación de derivados carboximetilados del alginato de sodio como superabsorbente. *Revista Cubana de Química*. Vol XVII. 3: 239-240
- Huang A.S. y von Elbe JH. 1987. Effect of pH on the degradation and regeneration of betanine. *Journal of Food Science* **52**, 1689–93.
- Huang, A. S. y von Elbe, J. H. 1985. Kinetics of the degradation and regeneration of betanine. *Journal of Food Science* **50**, 1115-1129.
- Innova Market Insights, 2015. Copyright.
- Jacobs DR Jr, Gross MD, Tapsell LC. 2009 Food synergy: an operational concept for understanding nutrition. *Clinical Nutrition*;89:1543S-1548S.
- Kanner, J., Harel, S. y Granit, R. 2001. Betalains - A new class of dietary cationized antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **49**, 5178-5185.

Kwak, H., M. Ihm and J. Ahn. 2001. Microencapsulation of β -galactosidase with fatty acid esters. *Journal Dairy Science* 84: 1576-1582.

Kujala T., I. Baruah, S. Dube and M. Hussain. 2002. Microencapsulation of Zanthoxylum limonella oil (ZLO) in glutaraldehyde crosslinked gelatin for mosquito repellent application. *Bioresource Technology* 98(4): 840-844.

Leopoldini, M., Russo, N. y Toscano, M. 2011. The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry* **125**, 288–306.

Lee, H. y D. Gómez. 2008. Preparación de microesferas mediante secado por aspersión, [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152008000300010&Ing=es.](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152008000300010&Ing=es;); consultado: febrero 2017.

Lupo P. B. González A.C. y Maestro G. A. 2012. Microencapsulación con alginato en alimentos, Técnicas y aplicaciones. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos* 3(1) 130-151

Madene, A., J. Scher, and S. Desobry. 2006. Flavour encapsulation and controlled release - a review. *International Journal of Food Science and Technology* 4(1):1-21, 2006.

Milner J.A. 2004. Molecular targets for bioactive food components. *Journal of Nutrition*, 134(9):2492S-2498S.

Miletic D.A.J.M., Brouns F., Hornstra G., Mensink R.P. 2012. Effects on the human serum lipoprotein profile of β -glucan, soy protein and isoflavones, plant sterols and stanols, garlic and tocotrienols. *Journal of Nutrition*, 132(9): 2494-2505.

Morales, M., Sáenz, C. y Robert, P. 2008. Bioactives compounds in toppings from colored cactus pear cultivated in Chile. *Acta Horticulturae* **811**, 127-130. 74

Moreno, D., García, C y Gil, J. 2008. Betalains in the era of global agri-food science, technology and nutritional health. *Phytochemistry Rev* **7**, 261–280.

Moreau R.A., Whitaker B.D., Hicks K.B. 2002. Phytosterols, phytanols, and their conjugates in foods: structural diversity, quantitative analysis, and health promoting uses. *Progress in Lipid Research*, 41(6): 457-500.

Moßhammer, M. R., Rohe, M., Stintzing, F.C. y Carle, R. 2007. Stability of yellow-orange cactus pear (*Opuntia ficus-indica* [L.]Mill. cv. 'Giulla') betalains as affected by the juice matrix and selected food additives. *European Food Research and Technology* **225**, 21–32.

Moßhammer, M.R., Stintzing, F.C. y Carle, R. 2005. Development of a process for the production of a betalain-based colouring food stuff from cactus pear. *Innovative Food Science & Emerging Technology* **6**, 221– 231.

Moßhammer, M.R., Stintzing, F.C. y Carle, R. 2006. Evaluation of different methods for the production of juice concentrates and fruit powders from cactus pear. *Innovative Food Science & Emerging Technology* **7**, 275– 287.

Nazzaro, J. 2009. Characteristics of microencapsulated β -carotene formed by spray drying with modified tapioca starch, native tapioca starch and maltodextrin. *Food Hydrocolloids* **21**, 928-935.

Oficial Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL, 20th Edition (2016)

Okada T., Tanaka K., Fujita I., Sato E., Okajima H. 2005. Antioxidant activity of thiosulfates derived from garlic. *Redox Report Communications in Free Radical Research*, 10(2):96-102.

Ortega, G.R., Gonzáles, R., Grajales, A. y Ruiz M.A. 2007. Spray-Drying of Cactus Pear Juice (*Opuntia streptacantha*): Effect on the Physicochemical Properties of Powder and Reconstituted Product. *Drying Technology* **23**: 955-973. 76

O'Mahony, M and Rousseau, B. 2002. Discrimination testing; a few ideas, old and new. *Food Quality and Preference*. 14, 157-64

Piga, A. 2004. Cactus pear: a fruit of nutraceutical and functional. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* **6**, 9-22.

Pitalua, A., Jimenez, E., Vernon-Carter, C. y Beristain, C. 2010. Antioxidative activity of microcapsules with beetroot juice using gum Arabic as wall material. *Food and Bioproducts Processing* **88**, 253-258

Reddy, C. and S. Simovic. 2005. Nanoparticle encapsulation of emulsion droplets. *International Journal of Pharmaceutical* 324(1):92-100.

SAGARPA, 2014. Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/quienesomos/datosabiertos/Paginas/default.aspx> (fecha consultada: Abril 2017)

Sáenz, C. 2004. Compuestos funcionales y alimentos derivados de *Opuntia* spp. p. 211-222. In: Esparza, G., Valdez, R. y Méndez, S. eds. El Nopal, Tópicos de actualidad. Universidad Autónoma de Chapingo, México.

Sáenz, C. y Sepúlveda, E. 2001. Ecotipos coloreados de tuna (*Opuntia ficus-indica*). *Aconex* **72**, 29-32.

- Sáenz, C., S. Tapia, J. Chávez and P. Robert. 2009. Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). *Food Chemistry* 114(2): 616–622.
- Schrooyen, P., R. Meer and C. Kruif. 2001. Microencapsulation: its application in nutrition. *Proceedings of the Nutrition Society* 60(4): 475-479.
- Serris, G. M. y Hornstein, J. S. 2001 Varietal differences in colorant properties and stability of red beet pigments. *Journal of Food Science* **44**, 1245-1248.
- Serrano, K., R. Weerakkody and M. Augustin. 2009. In vitro evaluation of hydrocolloid-based encapsulated fish oil. *Food Hydrocolloids* 23(5): 1413–1419
- Sepúlveda, E., Sáenz, C. y Gómez, C. 2003. Determinación de betanina en ecotipos de betarraga roja colectados en Chile. Memoria IX Congreso Nacional y VII 77 Congreso Internacional Conocimiento y aprovechamiento del nopal. Zacatecas, México. pp. 282-285.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R. M. (1999). Methods in Enzymology, oxidant and antioxidants (Part A). In L. Packer (Ed.), Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent.
- Singh, R. P. y Heldman, D. R. 2001. Introduction to Food Engineering. Chapter 7: Food freezing. Academic Press. California, EE. UU.
- Sreekantah, D.S., Arunasree, M.K., Roy, K.R., Reddy, T.C., Reddy, G.V. y Reddanna, P. 2007. Betanin a betacyanin pigment purified from fruits of *Opuntia ficus indica* induces apoptosis in human chronic myeloid leukemia cell line-K562. *Phytomedicine* **14**, 739–746.
- Stintzing, F. y Carle, R. 2004. Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. *Trends Food Science Technology* **15**, 19-38.
- Stintzing, F., Herbach, K., Moßhammer, M., Carle R., Yi, W., Sellappan, S., Akoh C. y Felker, P. 2005. Color, Betalain Pattern, and Antioxidant Properties of Cactus Pear (*Opuntia* spp.) Clones. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**, 442-451.
- Stintzing, F.C., Schieber, A. y Carle, R. 2002. Identification of betalains from yellow beet (*Beta vulgaris* L.) and cactus pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.] by high-performance liquid chromatography–electrospray ionization mass spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50**, 2302–2307. 78
- Stuchlík M., Stanislav Žák. 2002. Vegetable lipids as components of functional foods. Biomedical Papers of the Medical Faculty of the University Palacky Olomouc Czechoslovakia, 146(2):3-10.

- Tapia, S. 2007. Microencapsulación de compuestos biológicamente activos de tuna (*Opuntia ficus-indica*). Tesis para optar al grado de Magister en Ciencias Agropecuarias, mención Producción Agroindustrial. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Santiago, Chile. 69p.
- Tesoriere, L., Allegra, M., Butera, D. y Livrea, MA. 2004a. Absorption, excretion, and distribution of dietary antioxidant betalains in LDLs: potential health effects of betalains in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition* **80**, 941–945.
- Tesoriere, L., Butera, D., Allegra, M., Fazzari, M. y Livrea, M.A. 2005. Distribution of betalain pigments in red blood cells after consumption of cactus pear fruits and increased resistance of the cells to ex vivo induced oxidative hemolysis in humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**, 1266-1270.
- Tesoriere, L., Butera, D., D'Arpa, D., Di Gaudio, F., Allegra, M., Gentile, C. y Livrea, MA. 2003. Increased resistance to oxidation of betalain-enriched human low density lipoproteins. *Free Radical Res* **37**, 689–696.
- Torres, V. 2008. Microencapsulación de “polifenoles y betalaínas” desde un extracto acuoso de tuna (*Opuntia ficus-indica*), mediante secado por atomización. Universidad Tecnológica Metropolitana.
- Vaillant, F., Pérez, A., Dávila, I., Dornier, M. y Reynes, M. 2005. Colourant and antioxidant properties of red-purple pitahaya (*Hylocereus* sp.). *Fruits* **60**, 1–10. 79
- Villamizar, L. y F. Martínez. 2008. Determinación de las condiciones de microencapsulación de un baculovirus entomopatógeno mediante coacervación con Eudragit S100®. *Revista Vitae* 15(1): 123-131.
- Villena, M., Morales, H., Lara, G. y R. Martínez. 2009. Técnicas de microencapsulación: una propuesta para microencapsular probióticos. *Ars Pharmaceutica* 50(1): 43-50.
- von Elbe, J.H., Maing, I.Y. y Amundson, C.H. 1974. Color stability of betanin. *Journal of Food Science* **39**, 334-337.
- von Elbe, J.H., Schwartz, S.J. y Hildenbrand, B.E. 1981. Loss and regeneration of betacyanin pigments during processing of red beets. *Journal of Food Science* **46**, 1713–1715.
- Vulic J, Vesna T. y Vladimir K. (2012). Antioxidant and cell growth activities of beet root extracts. *Journal of Food Science* 259, 298.
- Wandrey, C., A. Bartkowiak, and S. Harding. 2010. Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing,

Wu, L., Hsu, H.W., Chen, Y.C., Chiu, CC., Lin, YI. y Ho, JA. 2006. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. *Food Chemistry* **95**, 319-327.

Yáñez-Fernández, J., Salazar-Montoya, J.A., Chaires-Martínez, L., Jiménez-Hernández, J., Márquez-Robles, M. y Ramos-Ramírez, E.G. 2002. Aplicaciones biotecnológicas de la microencapsulación. *Avance y Perspectiva* **21**, 313-319.

Yañez, J., J. Salazar, L. Chaires, J. Jimenez, M. Marquez y E. Ramos. 2002. Aplicaciones biotecnológicas de la microencapsulación. *Revista Avance y Perspectiva* 21: 313-319.

Young, S., X. Sarda and M. Rosenberg. 1992. Microencapsulating properties of whey proteins with carbohydrates. *Journal Dairy Science* 76(10): 2878-2885.

Weinbreck, F., I. Bodnár and M. Marco. 2010. Can encapsulation lengthen the shelf-life of probiotic bacteria in dry products. *International Journal of Food Microbiology* 136(3): 364-367.

Zhong, Q., M. Jin, M. Davidson and S. Zivanovic. 2009. Sustained release of lysozyme from zein microcapsules produced by a supercritical anti-solvent process. *Food Chemistry* 115(2): 697–700.

Zielinska M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., & Heinonen, M. (2009). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 3954–3962

9. ANEXOS

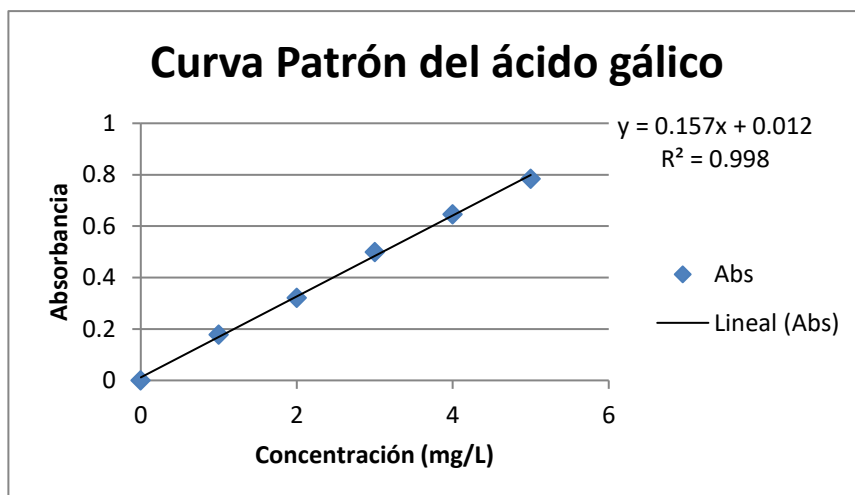
1 Materiales y Equipos

ETAPA	MATERIALES	REACTIVOS	EQUIPO
1.- Extracto	-Probeta de 250 mL -Vaso de pp de 500 mL -Colador	No aplica	-Extractor de jugo -Balanza granataria -Congelador
2.- Análisis Físicoquímicos	-Matraz Erlenmeyer de 250 mL -Vaso de precipitados de diferentes volúmenes -Brixómetro -Bureta de 50 mL -Matraz volumétrico de 25, 50 y 100 mL	-Buffers a pH = 4.7 y 10 -Fenofaleína etanólica -NaOH 0.01 N valorado Agua destilada	-Potenciómetro de Hidrógeno Termobalanza
3.- Identificación y cuantificación de Betalainas de un extracto de betabel	-Matraz volumétrico de 25, 50 y 100 mL -Vaso de precipitados de diferentes volúmenes -Micropipeta de 1000 µL -Tubos de ensaye -Gradilla -Puntas de micropipeta	-Extracto de jugo de betabel -Agua destilada -Ácido Gálico (Técnica Química S.A, 99.5%) -Carbonato de Sodio. Grado analítico -Etanol (Ferandelh,S.A DE C.V., 96%) -Reactivo de Folin-Ciocalteu. Grado Analítico	-Espectofotómetro y celdas de vidrio

<p align="center">4.- Microencapsulación de Betalaínas</p>	<p>Agitador de Vidrio -Probeta de 100 mL -Jeringa de 1000 µL -Colador -Vasos de precipitados de diferentes tamaños</p>	<p>-Alginato de sodio. Grado alimenticio- -Cloruro de calcio. Grado reactivo. -Extracto de jugo de betabel -Agua destilada</p>	<p>-Parrilla eléctrica con agitación</p>
<p align="center">5.- Estudio Sensorial</p>	<p>Vasos del número 0 Cucharas del número 0 Servilletas Vasos de agua Charolas de presentación Vasos de precipitado de 1 L Agitadores de vidrio</p>	<p>-Microcápsulas con el extracto de betabel -jugo clarificado saborizado -Yogurt natural -Agua potable</p>	

10.2 Curva patrón del ácido gálico

Curva patrón	
Concentración (mg/L)	Abs
0	0.000
1	0.178
2	0.322
3	0.500
4	0.647
5	0.785



3 Cuestionario del estudio sensorial

Nombre: _____ Edad: _____ Sexo: M F

CUESTIONARIO DE ALIMENTOS FUNCIONALES

“EL MOTIVO DE ESTA ENTREVISTA ES EVALUAR ALIMENTOS FUNCIONALES
Y QUEREMOS CONOCER TU OPINIÓN”

Instrucciones: TE VOY A PEDIR QUE POR FAVOR RESPONDAS LO SIGUIENTE...

Por favor marca con una “X” la respuesta que consideres apropiada

1. ¿Sabes que son los **Antioxidantes**?

SI	NO
A	B

2. ¿Consumes o has consumido alimentos con **Antioxidantes**?

SI	NO
A	B

3. ¿Qué alimentos con **Antioxidantes** consumes o has consumido? (Si no consumes, saltar a pregunta 4)

MUESTRA 802

Marque con una “X” la respuesta que corresponda a su preferencia

Te voy a pedir que observes bien y pruebes el producto que tienes frente a ti y contestes las siguientes preguntas:

1. ¿Qué tanto te gusta o te disgusta, la APARIENCIA, TEXTURA TAMAÑO DE LA ESFERA, COLOR Y SABOR del producto que estás evaluando, dirías que,,,?

ATRIBUTO SENSORIAL	Me Gusta Muchísimo 9	Me gusta Mucho 8	Me Gusta 7	Me Gusta Poco 6	Ni me gusta ni me disgusta 5	Me disgusta Poco 4	Me Disgusta 3	Me disgusta Mucho 2	Me disgusta Muchísimo 1
Apariencia									
Textura									
Tamaño De las cápsulas									
Sabor									
Color									

AHORA TE VOY A PEDIR QUE VUELVAS A PROBAR EL PRODUCTO Y CONTESTES LO SIGUIENTE:

2. En **GENERAL**, ¿Qué tanto te gusta éste producto?

Me Gusta Muchísimo	Me gusta Mucho	Me Gusta	Me Gusta Poco	Ni me gusta ni me disgusta	Me disgusta Poco	Me Disgusta	Me disgusta Mucho	Me disgusta Muchísimo
9	8	7	6	5	4	3	2	1

3. El tamaño de las esferas de este producto son:

Mucho más GRANDES de lo que me gusta	Más GRANDES de lo que me gusta	Justo como me gusta	Más PEQUEÑAS de lo que me gusta	Mucho más PEQUEÑAS de lo que me gusta
5	4	3	2	1

4. Si este producto estuviera disponible en tu tienda favorita, ¿Qué tan seguro estarías de **comprarlo?**..

Definitivamente Si lo compraría	Probablemente sí lo compraría	Tal vez sí o tal vez no lo compraría	Probablemente NO lo compraría	Definitivamente No lo compraría
5	4	3	2	1

MUESTRA 103

Marque con una "X" la respuesta que corresponda a su preferencia

Te voy a pedir que observes bien y pruebes el producto que tienes frente a ti y contestes las siguientes preguntas:

1. ¿Qué tanto te gusta o te disgusta, la APARIENCIA, TEXTURA TAMAÑO DE LA ESFERA, COLOR Y SABOR del producto que estás evaluando, dirías que,,,,?

ATRIBUTO SENSORIAL	Me Gusta Muchísimo 9	Me gusta Mucho 8	Me Gusta 7	Me Gusta Poco 6	Ni me gusta ni me disgusta 5	Me disgusta Poco 4	Me Disgusta 3	Me disgusta Mucho 2	Me disgusta Muchísimo 1
Apariencia									
Textura									
Tamaño De las cápsulas									
Sabor									
Color									

AHORA TE VOY A PEDIR QUE VUELVAS A PROBAR EL PRODUCTO Y CONTESTES LO SIGUIENTE:

2. En **GENERAL**, ¿Qué tanto te gusta éste producto?

Me Gusta Muchísimo	Me gusta Mucho	Me Gusta	Me Gusta Poco	Ni me gusta ni me disgusta	Me disgusta Poco	Me Disgusta	Me disgusta Mucho	Me disgusta Muchísimo
9	8	7	6	5	4	3	2	1

5. El tamaño de las esferas de este producto son:

Mucho más GRANDES de lo que me gusta	Más GRANDES de lo que me gusta	Justo como me gusta	Más PEQUEÑAS de lo que me gusta	Mucho más PEQUEÑAS de lo que me gusta
5	4	3	2	1

6. Si este producto estuviera disponible en tu tienda favorita, ¿Qué tan seguro estarías de comprarlo?..

Definitivamente SI lo compraría	Probablemente sí lo compraría	Tal vez sí o tal vez no lo compraría	Probablemente NO lo compraría	Definitivamente No lo compraría
5	4	3	2	1

MUESTRA 471

Marque con una "X" la respuesta que corresponda a su preferencia

Te voy a pedir que observes bien y pruebes el producto que tienes frente a ti y contestes las siguientes preguntas:

1. ¿Qué tanto te gusta o te disgusta, la APARIENCIA, TEXTURA TAMAÑO DE LA ESFERA, COLOR Y SABOR del producto que estás evaluando, dirías que, , , , ?

ATRIBUTO SENSORIAL	Me Gusta Muchísimo 9	Me gusta Mucho 8	Me Gusta 7	Me Gusta Poco 6	Ni me gusta ni me disgusta 5	Me disgusta Poco 4	Me Disgusta 3	Me disgusta Mucho 2	Me disgusta Muchísimo 1
Apariencia									
Textura									
Tamaño De las cápsulas									
Sabor									
Color									

AHORA TE VOY A PEDIR QUE VUELVAS A PROBAR EL PRODUCTO Y CONTESTES LO SIGUIENTE:

2. En **GENERAL**, ¿Qué tanto te gusta éste producto?

Me Gusta Muchísimo	Me gusta Mucho	Me Gusta	Me Gusta Poco	Ni me gusta ni me disgusta	Me disgusta Poco	Me Disgusta	Me disgusta Mucho	Me disgusta Muchísimo
9	8	7	6	5	4	3	2	1

3. El tamaño de las esferas de este producto son:

Mucho más GRANDES de lo que me gusta	Más GRANDES de lo que me gusta	Justo como me gusta	Más PEQUEÑAS de lo que me gusta	Mucho más PEQUEÑAS de lo que me gusta
5	4	3	2	1

4. Si este producto estuviera disponible en tu tienda favorita, ¿Qué tan seguro estarías de comprarlo?..

Definitivamente SI lo compraría	Probablemente sí lo compraría	Tal vez sí o tal vez no lo compraría	Probablemente NO lo compraría	Definitivamente No lo compraría
5	4	3	2	1

4. Escoge el código que más te gustó (NO se pueden elegir los dos)

471	103

GRACIAS POR TU COLABORACIÓN =)

4. Anovas: Identificación y cuantificación de Betalaínas

- **Betaxantinas**

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	F>Pr
Modelo	1	0.001	0.001	0.701	0.449
Error	4	0.005	0.001		
Total corregido	5	0.006			

Calculado contra el modelo $Y=Media(Y)$

Pruebas robustas de igualdad de medias

Estadístico	F	GL1	GL2	F>Pr
Estadístico de Welch	0.701	1	2.951430455	0.465
Razón de Browne-Forsythe	0.701	1	2.951430455	0.465

- **Indicaxantinas**

Análisis de varianza (Y2):

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	F>Pr
Modelo	1	0.017	0.017	17.655	0.014
Error	4	0.004	0.001		
Total corregido	5	0.021			

Calculado contra el modelo $Y=Media(Y)$

Pruebas robustas de igualdad de medias (Y2):

Estadístico	F	GL1	GL2	F>Pr
Estadístico de Welch	17.655	1	3.574920298	0.017
Razón de Browne-Forsythe	17.655	1	3.574920298	0.017

- pH

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F
Modelo	1	0.135	0.135	3.986	0.117
Error	4	0.136	0.034		
Total corregido	5	0.271			

Calculado contra el modelo $Y=Media(Y)$

Pruebas robustas de igualdad de medias (Y3):

Estadístico	F	GL1	GL2	Pr > F
Estadístico de Welch	3.986	1	2.000014913	0.184
Razón de Browne-Forsythe	3.986	1	2.000014913	0.184

- Acidez

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F
Modelo	1	14.727	14.727	0.622	0.475
Error	4	94.773	23.693		
Total corregido	5	109.500			

Calculado contra el modelo $Y=Media(Y)$

Pruebas robustas de igualdad de medias (Y4):

Estadístico	F	GL1	GL2	Pr > F
Estadístico de Welch	0.622	1	2.274188144	0.504
Razón de Browne-Forsythe	0.622	1	2.274188144	0.504

5. Anovas del estudio sensorial

NOTA:

MUESTRA 471 = Yogurt base natural con esferas de betalaínas

MUESTRA 103: Jugo clarificado sabor manzana con esferas de betalaínas

MUESTRA 802 : Esferas de betalaínas

C1 / Tukey (HSD) / Análisis de las diferencias entre las categorías con un intervalo de confianza de 95% (Y6):

Contraste	Diferencia	Diferencia estandarizada	Valor crítico	Pr > Dif
471 vs 802	1.750	9.851	2.356	< 0.0001
471 vs 103	0.490	2.758	2.356	0.017
103 vs 802	1.260	7.093	2.356	< 0.0001
Valor crítico del d de Tukey:			3.331	

Categoría	Medias LS	Error estándar	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)
471	7.180	0.126	6.933	7.427
103	6.690	0.126	6.443	6.937
802	5.430	0.126	5.183	5.677

C1 / Fisher (LSD) / Análisis de las diferencias entre las categorías con un intervalo de confianza de 95% (Y6):

Contraste	Diferencia	Diferencia estandarizada	Valor crítico	Pr > Dif
471 vs 802	1.750	9.851	1.968	< 0.0001
471 vs 103	0.490	2.758	1.968	0.006
103 vs 802	1.260	7.093	1.968	< 0.0001
LSD-valor:			0.35	

Categoría	Medias LS	Error estándar	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)
471	7.180	0.126	6.933	7.427
103	6.690	0.126	6.443	6.937
802	5.430	0.126	5.183	5.677

Resumen para todos los Ys:

	Y1	Y2	Y3	Y4
R ²	0.146	0.088	0.014	0.469
F	25.372	14.356	2.162	130.943
Pr > F	< 0.0001	< 0.0001	0.117	< 0.0001

Resumen de las comparaciones por pares para C1 (Tukey (HSD)):

Categoría	Medias LS(Apariencia)	Grupos
471	7.210	A
802	6.180	B
103	5.760	B

Categoría	Medias LS(Textura)	Grupos
471	7.290	A
103	6.510	B
802	6.280	B

Categoría	Medias LS(Tamaño de esferas)	Grupos
471	6.610	A
802	6.530	A
103	6.210	A

Categoría	Medias LS(Sabor)	Grupos
471	7.300	A
103	7.060	A
802	4.720	B

Categoría	Medias LS(Color)	Grupos
471	7.420	A
802	7.090	A
103	6.490	B

Categoría	Medias LS(Gusto en general)	Grupos
471	7.180	A
103	6.690	B
802	5.430	C

Resumen de las comparaciones por pares para C1 (Fisher (LSD)):

Categoría	Medias LS(Apariencia)	Grupos
471	7.210	A
802	6.180	B
103	5.760	C

Categoría	Medias LS(Textura)	Grupos
471	7.290	A
103	6.510	B
802	6.280	B

Categoría	Medias LS(tamaño de esferas)	Grupos
471	6.610	A
802	6.530	A
103	6.210	A

Categoría	Medias LS(sabor)	Grupos
471	7.300	A
103	7.060	A
802	4.720	B

Categoría	Medias LS(color)	Grupos
471	7.420	A
802	7.090	A
103	6.490	B

Categoría	Medias LS(gusto en general)	Grupos
471	7.180	A
103	6.690	B
802	5.430	C