

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA JUAN MISAEL SARACHO

FACULTAD DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍA

CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA

**OBTENCIÓN DE COLORANTE NATURAL “BETALAÍNA” A
PARTIR DE REMOLACHA (VARIEDAD DETROIT)
PRODUCIDA EN EL DEPARTAMENTO DE TARIJA**



POR:

RAQUEL WENDY CARVALLO RAMÍREZ

Modalidad de graduación (Investigación Aplicada) presentado a consideración de la “UNIVERSIDAD AUTÓNOMA JUAN MISAEL SARACHO”, como requisito para optar el grado académico de Licenciatura en Ingeniería Química.

Agosto de 2017

TARIJA-BOLIVIA

ÍNDICE DE CONTENIDO

CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN

ANTECEDENTES.....	1
OBJETIVOS	10
OBJETIVO GENERAL	10
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
JUSTIFICACIÓN	11

CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO

2.1. Materia Prima: Remolacha (Beta Vulgaris)	14
2.1.1. Origen de la Remolacha	14
2.1.2. Descripción Taxonómica de la planta de Remolacha	15
2.1.3. Morfología de la planta de Remolacha	16
2.1.4. Características Organolépticas	17
2.1.5. Remolacha Detroit	17
2.1.6. Composición química de la Remolacha	18
2.2. Colorantes.....	20
2.2.1. Colorantes Artificiales	20
2.2.2. Colorantes Naturales	21
2.3. Identificación del Producto: Betalaina	21
2.3.1. Características de la Betalaina	21
2.3.2. Aplicaciones	25

2.3.3.	Fuentes	26
2.3.4.	Reacciones químicas para obtención de Betalaínas	26
2.3.5.	Factores que afectan la Estabilidad de la Betalaína	33
2.4.	Métodos de Extracción de Betalaínas	35
2.4.1.	Extracción por Soxhlet.....	35
2.4.2.	Extracción por Fermentación	35
2.4.3.	Extracción por Cristalización.....	36
2.4.4.	Extracción por Micropartículas.....	36
2.4.5.	Extracción por Centrifugado.....	37
2.4.6.	Extracción por Compresión.....	37
2.5.	Descripción de solventes	38
2.5.1.	Alcohol Etflico	38
2.5.2.	Agua	38

CAPÍTULO III

PARTE EXPERIMENTAL

3.1.	Descripción del método de investigación.....	40
3.1.1.	Caracterización microscópica del colorante.....	41
3.1.2.	Selección del Tipo de Solvente.....	42
3.1.3.	Proceso de obtención de Betalaína por Centrifugado	43
3.1.3.1.	Recepción de la materia prima.....	44
3.1.3.2.	Selección y Lavado.....	45
3.1.3.3.	Pelado.....	46
3.1.3.4.	Corte.....	46

3.1.3.5.	Pesado de la muestra.....	47
3.1.3.6.	Extracción con Solvente	47
3.1.3.7.	Centrifugado	48
3.1.3.8.	Almacenamiento	49
3.1.4.	Extracción por Compresión.....	50
3.1.4.1.	Recepción de la materia prima.....	51
3.1.4.2.	Selección y Lavado.....	51
3.1.4.3.	Pelado.....	51
3.1.4.4.	Rallado.....	51
3.1.4.5.	Pesado de la muestra.....	52
3.1.4.6.	Extracción con solvente	52
3.1.4.7.	Filtración.....	53
3.1.4.8.	Prensado.....	53
3.1.4.9.	Evaporación	54
3.1.4.10.	Almacenamiento	55
3.1.4.11.	Elaboración de la solución madre e hijas para análisis de espectrofotometría.....	55
3.1.5.	Selección del Proceso.....	57
3.1.5.1.	Proceso de extracción de betalaínas de la pulpa de Remolacha	57
3.1.6.	Diseño Experimental.....	59
3.1.6.1.	Factores	59
3.1.6.2.	Niveles	59
3.1.6.3.	Variable Respuesta	60
3.1.6.4.	Número de Combinaciones.....	60

3.1.6.5.	Descripción del proceso de Extracción.....	62
3.1.6.5.1.	Agitación.....	62
3.1.6.5.2.	Filtración.....	63
3.1.6.5.3.	Prensado.....	63
3.1.6.5.4.	Evaporación.....	64
3.1.6.5.5.	Almacenamiento.....	64
3.1.6.5.6.	Análisis cualitativo de betalaínas.....	64
3.1.6.5.7.	Análisis espectrofotométrico.....	67
3.2.	Balance de Materia y Energía.....	68
3.2.1.	Diagrama de Flujo del proceso de Extracción.....	69
3.2.2.	Balance de materia.....	71
3.2.3.	Balance de Energía.....	82

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS Y RESULTADOS

4.1.	Análisis de la materia prima y producto final.....	85
4.1.1.	Resultados de los análisis de la materia prima.....	86
4.2.	Resultados de los análisis del producto final.....	86
4.2.1.	Análisis estadístico de los datos para la curva patrón.....	87
4.2.2.	Determinación de Betalaínas.....	89
4.2.3.	Cálculos y resultados del balance de materia y energía.....	92
4.3.	Análisis estimativos de los costos de producción a escala laboratorio.....	95

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones	97
5.2. Recomendaciones	98
BIBLIOGRAFÍA	99

ÍNDICE DE CUADROS Y TABLAS

Tabla I-1: Producción mundial de Remolacha.....	2
Tabla I-2: Bolivia, Superficie y producción de remolacha 2007-2008, según cultivos, censo agropecuario 2008.....	3
Tabla I-3: Tarija, superficie y producción de remolacha en las campañas de invierno 2012 y verano 2012-2013, según cultivos, censo agropecuario 2013.....	3
Tabla I-4: Principales mercados importadores de materias colorantes de origen vegetal o animal año 2007, expresados en miles de dólares y en toneladas	6
Tabla I-5: Principales mercados exportadores de materias colorantes de origen vegetal o animal año 2007, expresados en miles de dólares y en toneladas	7
Tabla II-1 Taxonomía de la planta de Remolacha	15
Tabla II-2 Clasificación de la raíz de Remolacha	15
Tabla II-3: Información Nutricional de la Remolacha.....	18
Tabla II-4: Cuantificación de Betalaínas y Compuestos Fenólicos en la Remolacha.	19
Tabla II-5: Valores de constante dieléctrica y momento dipolar para etanol y agua. .	39
Tabla III-1: Selección del tipo de solvente	42
Tabla III-2: Características físicas de la materia prima	45
Tabla III-3: Volúmenes para las soluciones hijas	57
Tabla III-4: Selección del Proceso para obtención de Betalaínas	57

Tabla III-5: Niveles de los Factores	59
Tabla III-6: Codificación de las Variables	60
Tabla III-7: Diseño Factorial para el proceso de extracción	61
Tabla III-8: Registro de concentraciones de colorante en espectrofotometría.....	67
Tabla III-9: Datos de proceso de obtención de Betalaínas.....	68
Tabla III-10: Corrientes de Proceso	69
Tabla IV-1: Análisis de materia prima.....	86
Tabla IV-2 Análisis de producto final.....	86
Tabla IV-3: Condiciones del Espectrofotómetro	87
Tabla IV-4: Registro de absorbancias de las soluciones hijas	87
Tabla IV-5: Concentración del colorante	88
Tabla IV-6: Rendimiento del proceso de extracción.....	89
Tabla IV-7: ANOVA ^b	90
Tabla IV-8: COEFICIENTES ^a	90
Tabla IV-9: Resultados del balance de materia.....	92
Tabla IV-10: Resultados del balance de energía.....	95
Tabla IV-11: Costos de producción	96

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura II-1: Morfología de la planta de Remolacha.....	17
Figura II-2: Fórmula General de las Betalaínas	22
Figura II-3: Vista microscópica de Betalaínas dentro de la Remolacha	23
Figura II-4: Estructura de las moléculas de Ácido Betalámico (a); Betacianinas (b) y	
Figura II-5: Coloración de compuestos dentro de las Betalaínas.....	26

Figura II-6: Síntesis biológica de Betalaínas	27
Figura II-7: Síntesis química del ácido betalámico.....	29
Figura II-8: Mecanismo de reacción para síntesis de ácido betalámico.....	30
Figura II-9: Reacciones Químicas de las Betalaínas.....	31
Figura II-10: Estructura básica de las Betacianinas más abundantes.....	32
Figura II-11: Estructura básica de las Betaxantinas más abundantes	33
Figura III-1: Vista microscópica de colorante en remolacha	41
Figura III-2: Ubicación geográfica del municipio El Puente	44
Figura III-3: Remolacha variedad Detroit proveniente del municipio El Puente	44
Figura III-4: Remolachas seleccionadas y lavadas	45
Figura III-5: Remolacha pelada manualmente	46
Figura III-6: Corte transversal de la remolacha	46
Figura III-7: Pesado de la materia prima.....	47
Figura III-8: Extracción con solvente en agitador magnético.....	48
Figura III-9: Centrifugadora.....	48
Figura III-10: Almacenamiento del producto en frascos de vidrio	49
Figura III-11: Rallado de la Remolacha.....	51
Figura III-12: Pesado de muestra	52
Figura III-13: Extracción con solvente en agitador magnético.....	52
Figura III-14: Filtración del producto	53
Figura III-15: Prensado de los sólidos residuales	53
Figura III-16: Evaporación y concentración del colorante en rota-vapor	54
Figura III-17: Almacenamiento del líquido obtenido	55

Figura III-18: Solución madre e hijas para la elaboración de la curva espectrofotométrica.....	55
Figura III-19: Extracción de Betalaínas en el agitador magnético.....	62
Figura III-20: Mezcla Betalaínas: Solvente después de la agitación	62
Figura III-21: Filtración del colorante luego de la agitación	63
Figura III-22: Compresión de la parte sólida separada en la filtración.....	63
Figura III-23: Almacenamiento del colorante.....	64
Figura III-24: Prueba cualitativa para presencia de Betalaínas con KOH	65
Figura III-25: Reacción cualitativa con hidróxido de potasio 0.5 N.....	65
Figura III-26: Prueba cualitativa para presencia de Betalaínas con NH ₃	66
Figura III-27: Reacción cualitativa con amoníaco	66
Figura III-28: Soluciones preparadas en cubas de cuarzo para análisis espectrofotométrico.....	67
Figura IV-1: Variación de la concentración de Betalaínas vs Absorbancia.....	88
Figura IV-2: Rendimiento Observado y Rendimiento Calculado.....	91

ÍNDICE DE DIAGRAMAS

Diagrama III-1: Diagrama de Bloques por Centrifugado	43
Diagrama III-2: Diagrama de Bloques del Proceso de Extracción por Compresión ..	50
Diagrama III-3: Proceso experimental de extracción de Betalaínas de la pulpa de remolacha	58
Diagrama III-4: Flujo del proceso de extracción de betalaínas de la remolacha	70

NÓMINA DE ANEXOS

ANEXO I

ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE LA MATERIA PRIMA Y EL PRODUCTO

ANEXO II

RUTA METABÓLICA PARA LA BIOSÍNTESIS DE BETALAÍNAS

ANEXO III

SELECCIÓN DEL SOLVENTE Y PROCESO EN LA PARTE EXPERIMENTAL

ANEXO IV

SEGUNDA EXTRACCIÓN DEL COLORANTE CON SOLVENTE

ANEXO V

TRATAMIENTO DEL COLORANTE CON HIDRÓXIDO DE CALCIO

ANEXO VI

ESPECTRO DE BETALAÍNAS EN UV-VIS

ANEXO VII

DATOS ESTADÍSTICOS DE LA PARTE EXPERIMENTAL

ANEXO VIII

ANÁLISIS QUE REALIZA CEANID

ANEXO IX

CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS DE LOS EQUIPOS UTILIZADOS

ANEXO X

GALERÍA DE FOTOS

ANTECEDENTES

A raíz de la creciente preocupación por posibles efectos tóxicos de los colorantes sintéticos, se postulan como posibles reemplazantes a los pigmentos de origen natural. Es por esto que ante la preocupación de la población por el uso de colorantes artificiales, el rojo de remolacha está ganando aceptación, especialmente en productos de repostería, helados y derivados lácteos dirigidos a la población en general.

La remolacha es una hortaliza de raíz redonda, perteneciente a la familia de las Quenopodiáceas. Inicialmente forma la raíz principal y constituye las reservas energéticas (Alimentos CC, 1999).

El origen de la remolacha de mesa se encuentra relacionado con la especie Beta marítima, acelga marina o acelga bravía, originaria del Norte de África y que ya se cultivaba hace 4.000 años y creció de forma silvestre a lo largo de costas de Asia y Europa. De esta primitiva especie se desarrollarían la acelga, con abundante follaje, y la remolacha, de raíz carnosa y esférica. En estos primeros tiempos, la gente comía exclusivamente las hojas y no las raíces de remolacha (Alimentos CC, 1999).

Los antiguos romanos fueron una de las primeras civilizaciones que cultivaron remolacha para utilizar sus raíces como alimento; sin embargo aunque fue consumida por los romanos durante su dominio del Mare Nostrum, sería en el siglo XV cuando se introduciría en la dieta de países como Francia y España, a menudo en monasterios, pero también entre los campesinos. En el mismo siglo, este cultivo se encontraba en toda Europa aunque, como antaño, tan solo se comerían sus hojas. Ya en el siglo XVI se popularizaría el consumo de la dulce raíz de la remolacha en los países citados, además de introducirse en Alemania e Inglaterra. Por estas fechas, la remolacha también llegó a los Estados Unidos (Alimentos CC, 1999).

Con el paso del tiempo se especializaron las variedades, escogiendo para cada caso las remolachas que presentaban una mayor calidad. En la actualidad, el consumo de la variedad de mesa está muy implantado en países de la franja templada del planeta, especialmente en el continente europeo (Regmurcia.com, 2006).

Los principales productores comerciales de remolacha son Rusia, Francia, Estados Unidos y Alemania.

Tabla I-1: Producción mundial de Remolacha

PAÍSES	2011(Tn)	2012(Tn)
Rusia	47,643,270	45,057,000
Francia	38,106,133	33,688,393
Estados Unidos	26,214,010	31,965,560
Alemania	25,000,000	27,891,000
Ucrania	18,740,000	18,438,900
Turquía	16,126,489	15,000,000
Polonia	11,674,153	12,349,546
China	10,731,000	11,469,050
Egipto	7,486,101	7,600,000
Reino Unido	8,504,000	7,291,000
Países Bajos	5,857,980	5,734,645
Bélgica	5,408,977	5,438,400
Belarús	4,486,688	4,773,812
Irán	4,100,000	4,150,000
República Checa	3,898,887	3,868,829
Japón	3,547,000	3,758,000
España	4,188,535	3,482,400
Los demás	31,787,392	27,159,978
TOTAL	284,231,615	280,587,575

Fuente: Revista Faostat 2013

Dentro del ámbito nacional cabe resaltar que la remolacha está entre las hortalizas más importantes en la dieta diaria de los bolivianos por su alto contenido de vitaminas, minerales, proteínas y carbohidratos.

En Bolivia, la remolacha tiene una superficie de siembra de 1.234 hectáreas con rendimientos de 19,20 Ton/ha, según el INEC (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos), y ha tenido un auge de producción durante los últimos años en el país, dada su demanda que supera a la oferta, por su comercialización interna y externa (países vecinos), los cuales son muy exigentes en calidad y pone énfasis para su consumo en la calidad y residuos de agroquímicos que puedan presentar, siendo esta una de las limitantes para su exportación (Ontiveros, 2016)

Tabla I-2: Bolivia, Superficie y producción de remolacha 2007-2008, según cultivos, censo agropecuario 2008

	Superficie (hectáreas)	Producción (toneladas métricas)	Rendimiento (Kg/Ha)
BOLIVIA	651	3241	4978
SUCRE	123	600	4878
LA PAZ	86	462	5372
COCHABAMBA	193	1134	5876
POTOSÍ	47	143	3043
TARIJA	160	687	4294
SANTA CRUZ	42	215	5119

Fuente: Instituto Nacional de Estadísticas (INE) 2008

Tabla I-3: Tarija, superficie y producción de remolacha en las campañas de invierno 2012 y verano 2012-2013, según cultivos, censo agropecuario 2013

CULTIVO DE REMOLACHA (Por años)	SUPERFICIE (En Hectáreas)	PRODUCCION (En toneladas métricas)
2013	40,4	203,0

Fuente: Instituto Nacional de Estadísticas (INE) 2013

Anualmente se producen aproximadamente 2.400 hectáreas de hortalizas, en las que los productos más importantes de la dieta a nivel nacional son la cebolla, zanahoria, tomate, lechuga, zapallo y la remolacha; la producción de esta hortaliza alcanza las 3.241 toneladas en una superficie de 651 hectáreas con un rendimiento promedio de 5 toneladas por hectárea, según datos del INE de 2008.

En el año 2012, los investigadores del Instituto Nacional de Innovación Agropecuaria y Forestal (INIAF) lanzaron al mercado nacional una nueva variedad de beterraba denominada caperucita, con un rendimiento de 20 a 30 toneladas por hectárea.

Posteriormente se hicieron las pruebas de validación en varias zonas que determinaron un buen rendimiento productivo además de una gran aceptación de parte de los agricultores, que animó al INIAF a liberar al mercado nacional en julio del 2013, tanto semillas como el producto.

Aunque la remolacha crece con preferencia en clima templado, también es apta para el altiplano y los llanos por su capacidad de acomodarse a diferentes temperaturas; es de esta manera que dentro del mercado nacional, se cultiva principalmente en la zona de los valles y los valles interandinos de Cochabamba, Chuquisaca y Tarija, además de los valles mesotérmicos de Santa Cruz.

El territorio boliviano se caracteriza en gran parte por la fertilidad de sus suelos, lo que convierte a la región nacional en un eficaz productor agropecuario. Sin embargo, no cuenta con los proyectos suficientes o pertinentes para alcanzar una producción no solo en base a la materia prima sino también a la transformación y refinamiento de la misma, lo cual encierra al país en opciones reducidas al momento de solventar y apoyar la actividad económica dentro del marco nacional.

La buena aceptación que tiene la remolacha en el consumo nacional ha llevado al país a incrementar la producción de esta, la cual se podría convertir en una excelente materia prima para la fabricación de productos derivados de la misma mediante procesos adecuados de transformación que podrían llevarse al mercado interno y externo y no solo comercializarla como materia prima lo cual llevaría a un mayor aprovechamiento de este producto; tal y como es el caso de la extracción de betalaína de la remolacha como colorante natural utilizado ampliamente en la industria de los alimentos incluyendo en esta gama a la repostería (AREX, 2013).

Los colorantes son aditivos que se agregan a productos alimenticios, cosméticos y farmacéuticos para mejorar la apariencia de estos; ya que, en muchos casos los clientes o consumidores tienen una imagen pre concebida de los productos que adquieren y dicha apariencia juega un rol importante en el proceso de decisión de compra. De esta manera, un colorante es aquella sustancia que le da color a otro material o mezcla. Asimismo, este colorante puede ser considerado un tinte o un pigmento dependiendo del medio en el que sea empleado, de la base de solubilidad, de la forma física y del método de aplicación (Arándiga y Díaz, 2008).

La industria alimentaria pudo haber sentido la atracción por el uso de colorantes cuando se publicaron los trabajos de Sir William Henry Perkin en el año 1856. Previa

a estas investigaciones la estabilidad de los colorantes y su empleo eran completamente ineficientes. En 1886 el Congreso de los Estados Unidos aprobó el uso de colorantes amarillos en la elaboración de la mantequilla y ya en 1900 muchos alimentos poseían colorantes. En 1912 el investigador alemán Bernard C. Hesse publica una serie de trabajos en los que recomienda el uso de colorantes en la industria alimentaria siempre que éstos no dañen la salud. Por aquel entonces la industria ya disponía de medio millar de diferentes compuestos químicos denominados colorantes artificiales.

El consumidor medio asocia ciertos colores a ciertos sabores, pudiendo influir el color de la comida en el sabor percibido, en productos que van desde las golosinas hasta el vino. Por este motivo, la industria alimentaria añade colorantes a sus productos, a veces con el fin de simular un color que es considerado “natural” por el consumidor, como por ejemplo el rojo a las cerezas confitadas (que de otra forma serían beis), pero a veces por estrategia comercial, como el ketchup verde que Heinz lanzó el año 2000.

Las betalaínas son pigmentos presentes en plantas que contienen nitrógeno en su estructura y son solubles en agua y en otros solventes orgánicos como etanol, encontrándose presentes en la mayoría de las plantas del orden de las Caryophyllales tanto en elementos comestibles como frutos y tubérculos o en elementos no comestibles como flores, tallos, hojas o raíces; además, se encuentran en semillas, como las de quinua que tienen una amplia gama de colores y también ha sido descrita su presencia en algunos hongos como en *Amanita muscaria* (García C, 2016).

El uso de betalaínas está autorizado por el Codex Alimentarius Commission (2004) y es comercializado en EEUU y la UE con el nombre de “rojo remolacha”. Se consigue como concentrados (producidos por concentración al vacío de jugo de remolacha al 60-65% de sólidos totales) o polvos producidos por liofilización o spray-dry con un 0.3 a 1% de pigmento. Es un colorante relativamente potente, alcanzándose el color deseado con dosis que no exceden los 50 mg/kg calculado como betalaína. (Vergara C, 2013).

Tras la maceración y extracción acuosa de la raíz de remolacha se obtiene un jarabe rojo oscuro, y de éste un polvo muy hidrosoluble. Se comercializa en ambas formas. La remolacha tiene una concentración de pigmentos entre 100 y 300 mg / 100 gr de peso fresco (Francis y Lauro, 2000).

La Betalaína es el agente colorante mayoritario. Las especificaciones alimentarias precisan que una preparación comercial debe contener al menos el 1% de betalaína cuando esta preparación es líquida y al menos 4% cuando está en forma de polvo (Multon, 2000).

Para los colorantes, dentro de ellos la betalaína, Japón y Estados Unidos son los principales importadores, con una participación de 12% y 11% respectivamente, seguido muy de cerca por Alemania con el 8% de participación en las importaciones a nivel mundial.

Tabla I-4: Principales mercados importadores de materias colorantes de origen vegetal o animal año 2007, expresados en miles de dólares y en toneladas

Países importadores	Valor (Miles de USD)	Volumen (t)	Crecimiento % (2003-2007)
Japón	84.683	4.450	11
Estados Unidos	75.388	6.178	9
Alemania	55.986	3.468	13
México	39.595	3.309	11
Francia	38.410	2.543	8
España	36.944	3.117	9
Reino Unido	34.753	4.644	11
Países Bajos	31.210	2.377	22

Fuente: Artículo en línea TradeMap 2013

Por otro lado, los principales países exportadores de materias colorantes de origen vegetal y animal dentro de los cuales se encuentra la betalaína, son: España, Estados Unidos y Alemania.

Tabla I-5: Principales mercados exportadores de materias colorantes de origen vegetal o animal año 2007, expresados en miles de dólares y en toneladas

Países exportadores	Valor (Miles de USD)	Volumen (t)	Crecimiento % (2003-2007)
España	62.619	8.181	2
Estados Unidos	59.354	2.846	30
Alemania	58.779	3.598	14
China	54.040	5.331	9
Países Bajos	47.416	2.786	12
Dinamarca	46.161	3.619	13
Reino Unido	44.031	2.792	33
Perú	34.551	3.793	8

Fuente: Artículo en línea TradeMap 2013

Las estrictas medidas que han tomado diversos países, como Alemania, Dinamarca y el Reino Unido, en cuanto a la utilización de elementos naturales para la producción de alimentos y artículos de uso directo, han producido un boom en las exportaciones de colorantes naturales, tal es así que entre enero y agosto de 2010, las producciones mundiales de colorantes naturales se incrementaron en un 44,5% con respecto al mismo periodo del año pasado, alcanzando un total de US\$ 36.4 millones, así lo afirmó el Comité de Colorantes y Extractos Naturales de la Asociación de Exportadores (Adex).

Actualmente en todo el mundo existe una tendencia a utilizar productos naturales; esto ha beneficiado a la industria dedicada a la elaboración de colorantes que inclusive espera bordear los US\$ 40 millones antes de finalizar el año, siendo Perú uno de los mayores países en exportaciones de colorantes, con un 95% del abastecimiento en mercados internacionales, seguido de Las Islas Canarias y Bolivia con menos del 5% (IBCE, 2009).

La empresa productora de colorantes naturales más significativa es Naturex-SRL que se encuentra en los departamentos de La Paz, Santa Cruz y Cochabamba; seguida de INALIM ubicada en los departamentos de La Paz y Santa Cruz (Albiz 2010), que producen colorantes naturales a base de tuna opuntia y carmín de cochinilla, entre otros; **no obstante, ninguno de estos produce colorantes a base de remolacha.**

Maldonado en sus proyectos realizados de la obtención de colorantes naturales a partir de distintos vegetales, manifiesta que algunos colorantes artificiales han sido detectados como tóxicos, y por ende ya están prohibidos en diversos países, lo que abre las puertas a pigmentos de origen vegetal.

Moreno y colaboradores (2002), en su publicación de la degradación de betalaínas en Remolacha (*Beta Vulgaris*), indican con estudio cinético (mediante el cálculo de los valores de absorbancia a 537 y 465 nm): orden de reacción, tiempo medio y constante de degradación; concluyendo, que la reacción es de primer orden y la degradación de la Betalaína es menor que la betaxantina.

Rodríguez y colaboradores (2009), realizaron estudios acerca de las Propiedades Cromógenas de las Betalaínas ante Fotones Gamma. Los extractos se obtuvieron por maceración, a partir de betabel y tres variedades de tuna que son estabilizados a un pH de 5.5. Se expusieron a los rayos gamma de una fuente de 137 Cs y se observó el cambio en la coloración mediante un espectrofotómetro ultravioleta/visible mediante la absorbancia de las muestras a fotones de 535 nm de longitud de onda. La absorbancia se midió a diferentes intervalos de tiempo. Se estableció la relación entre la dosis absorbida en agua Dw y las propiedades cromógenas del pigmento, con la intención de utilizarlo como posible dosímetro.

Guadalupe (2004) muestra en su investigación acerca del efecto de algunos agentes permeabilizantes sobre la liberación de Betalaínas producidas por cultivos en suspensión de Betabel o Remolacha en la cual muestra que los detergentes utilizados para permeabilizar la célula de *B. Vulgaris* se seleccionó el Tritón X-100 con base en la respuesta favorable que presentó la liberación de Betalaínas.

Actualmente en Bolivia se están realizando trabajos investigativos sobre la extracción de colorantes naturales en base a la producción nacional agrícola, forestal y animal como una alternativa de desarrollo económico dando como finalidad generar valor agregado a cada producto. Entre dichas investigaciones cabe resaltar los proyectos de grado que se realizan en las distintas universidades del país los cuales mediante meticulosas investigaciones han logrado extraer colorantes naturales tales como

licopeno (extraído de la cáscara de tomate), antocianinas (del maíz), flavonoides (de la semilla de palta), entre otros.

Ante la problemática existente de nuestro país por la falta de una normativa que regule el control de calidad de colorantes, se plantea como opciones la producción de colorantes naturales frente los del tipo sintético.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Obtener colorante natural “betalaína” a partir de remolacha (variedad Detroit) producida en el departamento de Tarija

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar la caracterización fisicoquímica de remolacha (variedad Detroit) producida en el departamento de Tarija para la obtención de betalaína.
- Seleccionar el proceso para obtención de betalaína a partir de remolacha (variedad Detroit) producida en el departamento de Tarija, determinando en forma experimental el más adecuado.
- Realizar la fase experimental (obtención del colorante), para el proceso seleccionado en la obtención de betalaína a partir de remolacha (variedad Detroit) producida en el departamento de Tarija.
- Efectuar la caracterización fisicoquímica del colorante natural betalaína obtenido a partir de remolacha (variedad Detroit) producida en el departamento de Tarija.
- Realizar la propuesta del proceso seleccionado para obtención de betalaína a partir de remolacha (variedad Detroit) producida en el departamento de Tarija.
- Realizar el balance de materia y energía del proceso de obtención de betalaína a partir de remolacha (variedad Detroit) producida en el departamento de Tarija.
- Analizar y valorar los resultados obtenidos en el proceso de obtención de betalaína a partir de remolacha (variedad Detroit) producida en el departamento de Tarija.

JUSTIFICACIÓN

El siguiente trabajo de investigación es de gran interés ya que tiene un fin determinado: disminuir el consumo de colorantes artificiales o sintéticos en alimentos y bebidas además de utilizar la remolacha para la extracción del colorante natural Betalaína y de esta manera salvaguardar la salud de las personas evitando que ingieran alimentos con colorantes artificiales, pretendiendo de esta manera mejorar la salud de los consumidores.

Como es bien sabido hoy en día se hace imperiosa la necesidad de mejorar y proteger la calidad de vida de las personas y uno de los factores determinantes en esta cuestión es la alimentación en la cual se ven involucrados los colorantes que las personas consumen dentro de su dieta diaria, ya sea en pequeñas o grandes cantidades, por lo que se plantean como una mejor opción los del tipo natural, en este caso, a partir de la remolacha impidiendo así provocar enfermedades graves que pueden ser ocasionadas por los colorantes de tipo sintético.

Los colorantes naturales tales como la betalaína, presentan:

- Alta compatibilidad con los sistemas vitales a diferencia de muchos colorantes sintéticos que se bioacumulan y alteran el metabolismo.
- No afectan la salud y son biodegradables.
- Para comunidades pequeñas, el consumo de colorantes naturales dan origen a prácticas productivas novedosas y a una mayor sostenibilidad económica y ecológica

La utilización de betalaínas como colorantes en el espectro rojo-violáceo es posible e inclusive tienen la ventaja de ser estables en medio ácido. Además, se pueden estabilizar en presencia de vitamina C, evitando su oxidación. Ambas propiedades los distinguen de las antocianinas, ya que estas se hidrolizan en medio ácido y se oxidan en presencia de vitamina C.

Pruebas clínicas mostraron que el consumo de la remolacha influye positivamente en el balance redox del organismo disminuyendo el daño oxidativo de los lípidos, en

tanto que la ingesta de jugo de beterraba retarda la oxidación de los lípidos, efectos que se atribuyen a las betalaínas. Los estudios in vivo que han sido reportados 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 no transmisibles. (Moreno et al., 2008).

La Betalaína, al ser un colorante natural, puede ser aplicada en diferentes sectores agroalimentarios, utilizándola también como pigmentos de pinturas en la industria de la cosmetología. Además, es importante recalcar que la remolacha, la materia prima de la extracción de la betalaína, es un alimento muy adecuado para los que sufren retención de líquidos, por lo que deberán comerlo habitualmente los obesos o quienes padecen problemas de artritis, incluso quienes pretendan bajar de peso. Estimula el cerebro y elimina las toxinas que en él se puedan acumular por lo que ayuda a mantener una buena salud mental y prevenir el envejecimiento precoz. Por su riqueza en hidratos de carbono, es un alimento muy enérgico, aunque fácilmente asimilable. Debería consumirse en combinación con otras verduras y no con otros alimentos muy calóricos o ricos en hidratos para evitar una excesiva acumulación de los mismos.

En la Agroindustria, la utilización de los colorantes naturales es de gran beneficio para los agricultores pues ellos tendrían más fuentes de trabajo en cuanto a cultivos y cosechas, además de una mayor producción dada la mayor demanda de materia prima que ya no solo se utilizaría para el consumo directo sino también para la refinación de la misma, lo cual lleva a la posibilidad de tener altas ventas de sus cosechas y por ende una estabilidad económica más satisfactoria.

En cuanto a los desechos que quedan de la utilización de la hortaliza se puede usarlos como alimento para animales; de esta manera no se desperdicia nada y se contribuye a disminuir la contaminación al medio ambiente.

Dentro de esta investigación cabe resaltar el aporte del proyecto ya que al obtener el colorante natural betalaína y aplicándolo en alimentos y bebidas se puede dar variedad de color a diferentes alimentos de manera más nutritiva apetecible; y dado a que son muy pocos los alimentos industrializados que no tienen colorantes, el color es

considerado un importante atributo de un alimento, aumentando su atractivo o más aún, vinculándolo con su calidad.

Por cuanto el proyecto de investigación plantea expectativas hacia una factibilidad aceptable ya que la remolacha es una hortaliza que se da durante todo el año en el país y en varios departamentos del mismo como ser Cochabamba, Sucre, Tarija y Santa Cruz, no siempre en grandes cantidades pero con el suficiente abastecimiento como para obtener el colorante; además del aporte que se está brindando con la fabricación del colorante natural de betalaína hacia una salud humana más estable.

Una parte de la atención en la realización del proyecto se centra en el ámbito investigativo que ofrece el mismo, puesto que de acuerdo a revisión bibliográfica se evidencia que no se cuenta con información detallada del proceso, específicamente para la obtención de Betalaína a partir de remolacha, al analizar dos métodos de obtención del colorante, valorando los resultados obtenidos entre ambos desde un punto de vista científico en el cual se pretende evaluar el proceso tecnológico, el colorante natural no solo en el aspecto químico como sustancia sino también desde un aspecto botánico.

Capítulo II

Marco Teórico

2.1.Materia Prima: Remolacha (Beta Vulgaris)

2.1.1. Origen de la Remolacha

Su origen se sitúa en Europa meridional, datado de tiempos prehistóricos, donde las hojas eran consumidas como verdura. Aristóteles mencionaba remolachas rojas, y Teofrasto verde claro y verde oscuro hacia el siglo IV A.C.

Los romanos utilizaban la remolacha para alimentación humana y como alimento para los animales. Los invasores germánicos la introdujeron en el norte de Europa desde Italia.

Fue muy utilizada para alimentación animal en el siglo XVI. La remolacha roja es descrita en numerosas recetas desde el siglo II.

Por estas fechas, la remolacha también llegó a los Estados Unidos. Hoy en día los principales productores comerciales de remolacha son los Estados Unidos, Rusia, Polonia, Francia y Alemania (Eroski Consumer, 2016).

Es un cultivo hortícola muy apreciado por los anglosajones, fundamentalmente para ensaladas. Se consume en fresco, cocida o en conserva. También se utiliza en la industria para extraer un colorante natural denominado betalaína.

En el territorio boliviano, en la zona de los valles se realiza la siembra de beteraba en otoño, es decir, entre febrero, marzo y abril para cosecharla a partir de julio hasta septiembre, ya que es una hortaliza que tolera bastante los climas templados a fríos, e iniciar una segunda temporada con la siembra en agosto para cosechar entre noviembre y diciembre.

En la zona del altiplano se la siembra en verano a partir de octubre y noviembre para cosechar entre marzo y abril.

La beterraba al ser un cultivo bastante intensivo, requiere que los productores preparen muy bien sus suelos con bastante materia orgánica y garanticen agua (Sociedad Bolivia, 2012).

2.1.2. Descripción Taxonómica de la planta de Remolacha

La remolacha, *Beta Vulgaris* variedad *saccharifera* Alef., perteneciente a la familia de las quenopodiáceas y al género *Beta*, es una especie dicotiledónea bienal.

Tabla II-1 Taxonomía de la planta de Remolacha

Reino	Vegetal
Phylum	Telemophytae
División	Tracheophytae
Subdivisión	Anthophyta
Clase	Angiospermae
Subclase	Dicotyledoneae
Grado Evolutivo	Archichlamydeae
Grupo de Ordenes	Corolinos
Orden	Centrospermales
Familia	Chenopodiaceae
Nombre científico	<i>Beta vulgaris</i> L. var: <i>rapacea</i> (Koch) Aellen
Nombre común	Remolacha

Fuente: Informe taxonómico de laboratorio de suelos, Facultad de Agronomía UAJMS, Ing. Ismael Acosta, 2016

Tabla II-2 Clasificación de la raíz de Remolacha

Origen	Normal
Forma	Tuberosa
Medio	Terrestre
Duración	Bianual
Consistencia	Carnosa
Sistema Radicular	Halorizo

Fuente: Informe taxonómico de laboratorio de suelos, Facultad de Agronomía UAJMS, Ing. Ismael Acosta, 2016

2.1.3. Morfología de la planta de Remolacha

La remolacha es una planta generalmente bienal, de 20-200 cm, monoica. Tallos angulosos, canaliculados. Hojas basales grandes, ovales, con la base cordada y borde ondulado, las superiores menores. Flores poco vistosas, verdosas, con cinco pétalos, acrescentes en las flores femeninas. Las flores se agrupan en glomérulos que se disponen en panículas muy ramificadas. Raíz engrosada y carnosa (AREX, 2013).

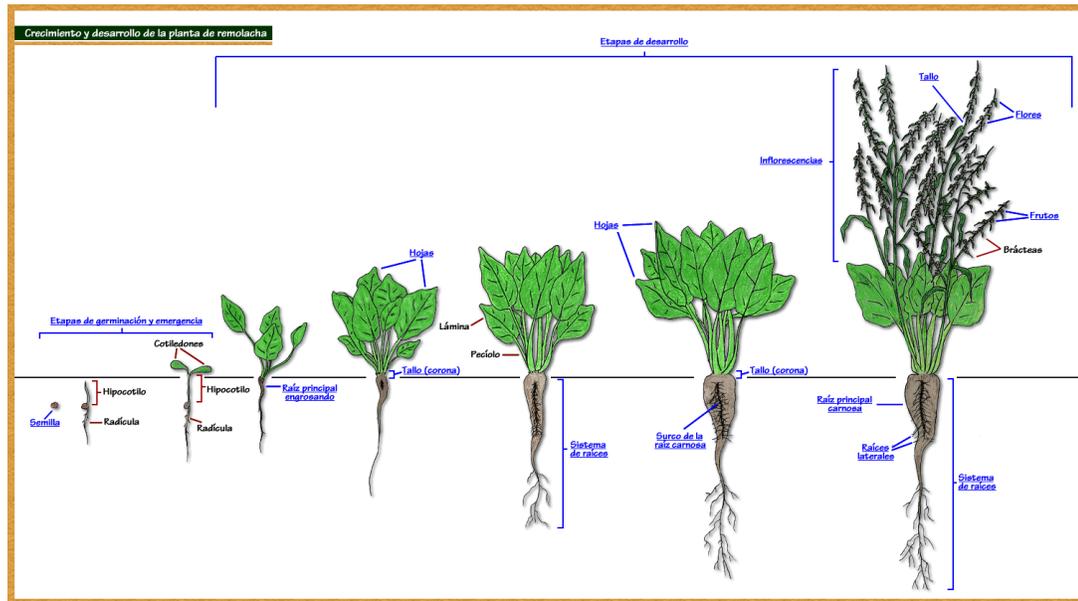
Es una planta anual a perenne, hierba robusta, glabra a hirsuta, que alcanza un tamaño de hasta 100 cm de largo, decumbentes a erectas, ramificadas y frondosas, de color verde a púrpura-violáceo; con raíces delgadas a tuberosas con almacenamiento de azúcar. Las hojas por lo general hasta de 12 x 6 cm, pecioladas (AREX, 2013).

La remolacha es una planta bianual, que durante el primer año de cultivo produce una roseta de hojas de márgenes enteros o sinuosos, de forma oval, con peciolo alargados y limbos lisos o abullonados. En este primer año la parte superior de su raíz se engrosa formando un tubérculo hipocotíleo y que constituye la parte comestible. La forma de este tubérculo puede ser alargada, redondeada o aplastadas. Es de color rojizo en proporción de betacianina / betaxantina (AREX, 2013).

En el segundo año de cultivo la planta emite el tallo floral. Las flores son de color verde-amarillento y forman grupos de 2 a 6 flores. La polinización es alógama y generalmente anemófila. Debido al crecimiento ininterrumpido de los cálices tras la floración se forman glomérulos que engloban cada uno 2 o 3 semillas cuya capacidad germinativa es de 4-6 años y su peso de 1 g por cada 60-70 semillas (Revista “Frutas-hortalizas”, 2008).

La parte más utilizada para alimentación es la raíz. Generalmente, tiene un color que varía desde el rojo hasta el morado oscuro en las variedades silvestres y blanco en las variedades azucareras. Tiene forma globular, cilíndrica o cónica. Se componen de una parte central alrededor de la cual se alternan zonas opacas (fibrosas y ricas en azúcar) y transparentes (pobres en azúcar pero ricas en agua y en materias nitrogenadas) (InfoAgro, 2001).

Figura II-1: Morfología de la planta de Remolacha



Fuente: Artículo en línea, Riegoremolacha.es.tl, 2009

2.1.4. Características Organolépticas

Sabor.-Debido a que se trata de una raíz en la que se acumulan gran cantidad de azúcares, su sabor es dulce.

Forma.-Globular cilíndrica o cónica.

Tamaño.-Este será de acuerdo a la categoría que pertenezca a la beterraba pero por lo general su diámetro no es menor de 4 cm aproximadamente.

Color.-Variable, desde rosáceo a violáceo y anaranjado rojizo hasta el marrón. La pulpa suele ser de color rojo oscuro y puede presentar en ocasiones círculos concéntricos de color blanco.

Textura.-Fibrosa, fresca, carnosa y jugosa (AREX, 2013)

2.1.5. Remolacha Detroit

Planta de vigor medio. Variedad de forma esférica, de color uniforme rojo oscuro, carne muy fina y dulce. El follaje es de un color verde rojizo. Maduración comercializable a los 60 días. Es una de las variedades más cotizadas en todos los

mercados. Se puede sembrar durante todo el año. Se usa tanto para industria como para el mercado en fresco.

2.1.6. Composición química de la Remolacha

Tabla II-3: Información Nutricional de la Remolacha

1 ración (100 gr)	100 gr
Calorías	58 Kcal
Carbohidratos	13.00 g
Azúcar	9.19 g
Fibra	3.8 g
Proteínas	2.19 g
Grasas	0.23 g
Grasas poliinsaturadas	0.082 g
Grasas monoinsaturadas	0.044 g
Grasas saturadas	0.037 g
Minerales	
Potasio	442 mg
Sodio	106 mg
Fósforo	54 mg
Magnesio	31 mg
Calcio	22 mg
Hierro	1.09 mg
Zinc	0.48 mg
Vitaminas	
Vitamina A	45 mg
Vitamina C	6.7 mg

Fuente: Base de datos de nutrientes de USDA 2009.

Tabla II-4: Cuantificación de Betalaínas y Compuestos Fenólicos en la Remolacha

Variedad	Pigmentos [mg / L]			Los ácidos fenólicos [mg / L]			
	total de Betalaínas	Betacianinas	betaxantinas	A. gálico	A. siríngico	A. cafeico	Á. ferúlico
Mona Lisa	1.309 ± 140	807 ± 99,3	501 ± 46,7	27.7	2.02	10.3	1.24
Moronia	1.135 ± 127	633 ± 75,6	501 ± 53,9	17.8	0,865	3.14	0,335
Redval	853 ± 80,1	466 ± 41,7	387 ± 38,6	14.4	1.34	3.03	0,751
Ägyptische Plattrunde	933 ± 147	576 ± 87,9	357 ± 61,9	30.2	0,674	5.78	0,399
Robuschka	767 ± 101	465 ± 69,5	301 ± 32,6	10.8	2.91	4.46	0,764
Forono	826 ± 197	515 ± 135	311 ± 62,8	21.3	1.63	3.74	0,246
Bolívar	789 ± 177	487 ± 86,3	301 ± 93,3	30.4	3.54	3.32	0,854
Media*	1103	705	397	21.8	1.85	4.82	0,651

Fuente: Revista Science Direct 2015

*Al no existir datos cuantificados de betalaínas en la variedad Detroit, se toma como referencia la variedad Mona Lisa que tiene características de color y forma más próximas a la variedad Detroit.

2.2. Colorantes

Los colorantes alimentarios son un tipo de aditivos alimentarios que proporcionan color a los alimentos (en su mayoría bebidas); si están presentes en los alimentos se consideran naturales y si por el contrario se añaden a los alimentos durante su pre-procesado mediante la intervención humana se denominan artificiales (Mireles, 2013).

El color es uno de los atributos más importantes en los alimentos y se considera un indicador de calidad y aceptabilidad (Azeredo, 2008).

Durante el procesamiento y/o almacenamiento, los alimentos son susceptibles a perder color, por lo cual la industria de alimentos utiliza colorantes para resaltar, recuperar o uniformar el color original.

Los colorantes pueden ser de origen natural o artificial, siendo estos últimos los más utilizados. Sin embargo, las regulaciones oficiales de la Unión Europea y EEUU han restringido el uso de colorantes artificiales debido a sus posibles efectos adversos sobre la salud (Tsuda et al, 2010).

En la actualidad existe un creciente interés en el desarrollo, utilización y consumo de colorantes naturales (Stintzing y Carle, 2004).

2.2.1. Colorantes Artificiales

Un colorante artificial es una sustancia obtenida por síntesis química que suministra o intensifica el color de un alimento. Con el objetivo de colorear los alimentos se han sintetizado colorantes orgánicos. Sin embargo, en algunos de ellos se han descubierto efectos tóxicos a largo plazo (cáncer) por lo que están prohibidos para el uso alimentario.

Los colorantes artificiales son solubles en agua por la presencia de grupos de ácido sulfónico. Esto implica que son fácilmente utilizados en forma de sales de sodio, en soluciones y pastas. Además, son utilizados en sólidos como lacas de hidróxido de aluminio (al 10-40 % p/p) para evitar que los productos “destiñan” (Aceituno M, 2010).

2.2.2. Colorantes Naturales

Los colorantes naturales los podemos definir como “aquellos que se obtienen de la materia animal y vegetal sin proceso químico. Estos son principalmente colorantes mordientes, aunque se conocen unos de la tina de disolventes, de pigmentos, directos y de los tipos ácidos. No se conocen colorantes naturales del tipo sulfurados, dispersos, azoicos o en rama” (Kirkbothmer, 1998).

2.3. Identificación del Producto: Betalaína

2.3.1. Características de la Betalaína

A partir de la remolacha se extrae el pigmento natural presente en esta raíz que le confiere su color rojo característico y que se emplea en la industria agroalimentaria para la obtención de un colorante denominado rojo de remolacha. Este colorante es utilizado para dar color a algunos productos como sopas, licores, helados, etc.

Esta sustancia hace que en algunas personas, la orina y las heces adquieran un color rojizo después de haber comido remolacha. Esto se debe a que carecen de la enzima que metaboliza dicho pigmento en el intestino, por lo que éste se elimina tal cual junto con la orina y las heces (Pontón, 1993).

Las betalaínas son compuestos naturales, solubles en agua que se han convertido en un foco de interés cada vez mayor de la industria alimenticia. Son los compuestos responsables de los colores amarillo y rojo en distintos órganos de plantas, como por el ejemplo, la remolacha. (Gandia, 2003)

Las Betalaínas son estables en productos deshidratados con una actividad de agua menor a 5.0. La Betalaína se vuelve más inestable a medida que se aumenta la actividad de agua y el contenido de humedad del alimento; por esta razón, los sólidos de remolacha deben almacenarse en las condiciones más secas posibles (Von Ebel et al, 1981).

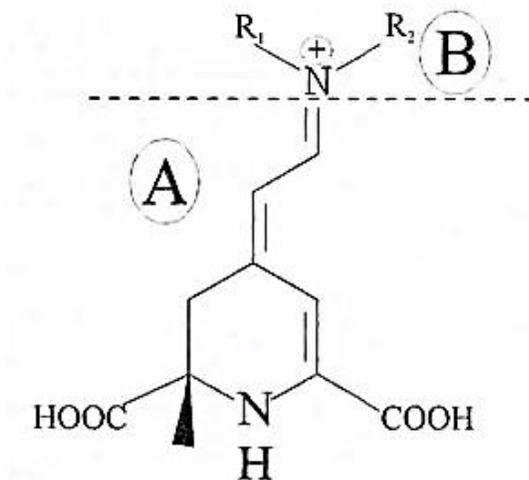
Las Betalaínas son compuestos orgánicos solubles en agua, con peso molecular que oscila entre 400 y 1000 gr/mol. La estructura de las Betalaínas es diferente a la de otros pigmentos encontrados en el reino vegetal, ya que son compuestos N-

heterocíclicos; son compuestos derivados de la condensación de una amina primaria o secundaria con el ácido betalámico. (Piatelli, 1981)

Las Betalaínas son un grupo de aproximadamente 70 pigmentos glicosidados hidrosolubles derivados de la 1,7-diazoheptametina presentes en las plantas del orden de las Centrospermas, y todas tienen la misma estructura básica, en la cual R_1 y R_2 puede ser un hidrogeno o un sustituyente aromático (Figura II-2). Están compuestos por las Betacianinas (longitud de onda máxima de absorción: 536 nm) de color rojo y las Betaxantinas (longitud de onda máxima de absorción: 480 nm) de color amarillo, ambas con diversos epímeros (Aceituno M, 2010).

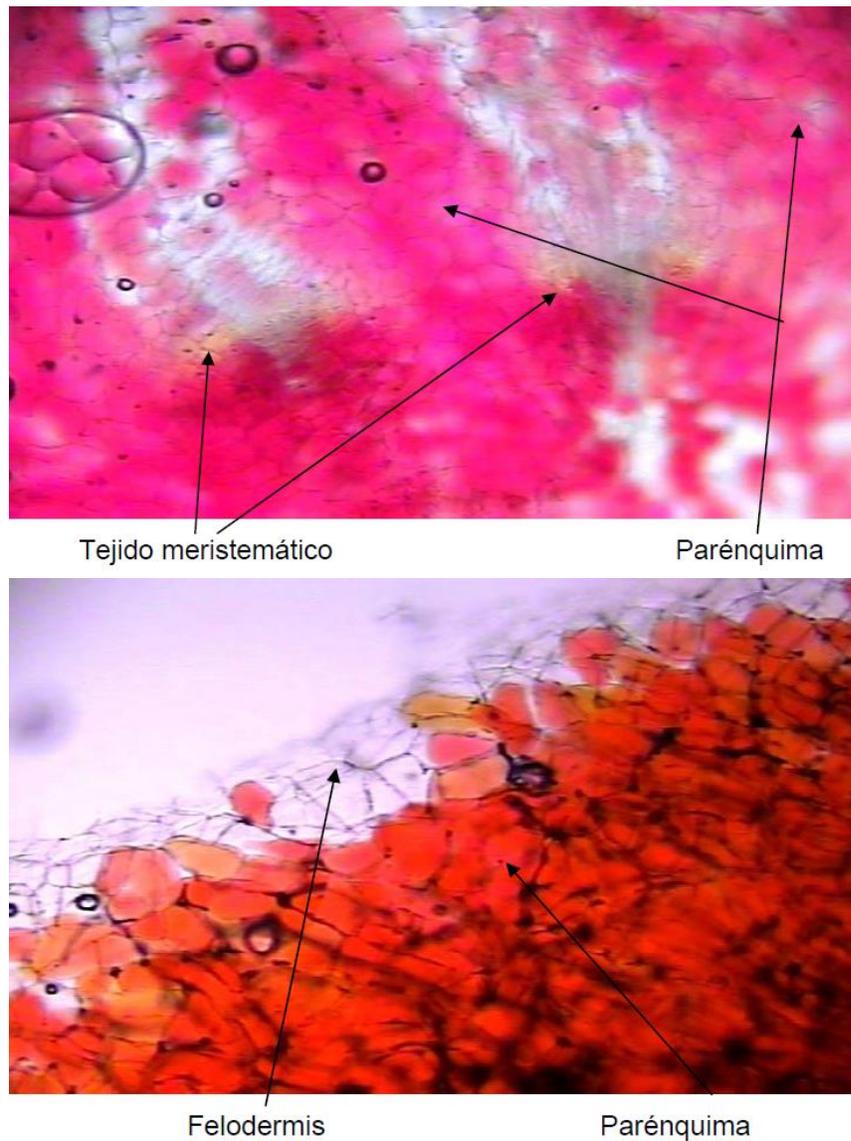
La forma general de las betalaínas representa la condensación de una amina primaria o secundaria con ácido betalámico (Francis y Lauro, 2000).

Figura II-2: Fórmula General de las Betalaínas



Fuente: Proyecto de investigación, Obtención de colorante natural “Betalaína” a partir de remolacha, Yanchapanta, 2011

Figura II-3: Vista microscópica de Betalaínas dentro de la Remolacha



Fuente: Proyecto de investigación, Propiedades de colorantes naturales, Aceituno Melgar, 2010

Como parte del desarrollo de la investigación analizando su ámbito botánico podemos describir a las betalainas como un metabolito secundario producido por la planta de la remolacha, el cual se genera en el xilema y desciende por el floema hasta llegar al tejido parenquimático depositado en el parénquima de reserva formando una

capa que cubre todo el tejido, de modo que adquiere este particular color rojizo (ver figura III-1).

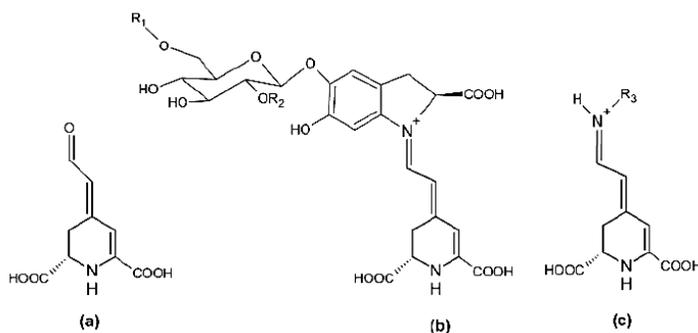
De las fuentes de betalaínas, solo la remolacha, el amaranto y las frutas de cactáceas son productos alimentarios (Franco y Zavaleta, 2004).

En la remolacha roja, las betalaínas corresponden a un 75-95% de los pigmentos, los otros son isobetanina, prebetanina e isoprebetanina; los dos últimos son monoésteres sulfatados de la betanina e isobetanina, respectivamente (García V, 2008).

Las betalaínas son uno de los pigmentos autorizados como aditivos por la FDA (Foods and Drugs Administration) de Estados Unidos y también está admitido en la Unión Europea con la designación de E-162, comercializándose de dos maneras: como polvo de remolacha, que incluye el pigmento y estabilizantes como azúcares y proteínas y antioxidantes, y como extracto líquido concentrado (García V, 2008).

Químicamente las betalaínas son alcaloides derivados de la tirosina que pueden ser de dos tipos: las betacianinas que son de color rojo-violáceo (b) y las betaxantinas (c) anaranjadas amarillentas, ambas con el núcleo fundamental del ácido betalámico (a).

Figura II-4: Estructura de las moléculas de Ácido Betalámico (a); Betacianinas (b) y Betaxantinas (c)



Fuente: Proyecto de investigación, Obtención de colorante natural “Betalaína” a partir de remolacha, Yanchapanta, 2011

2.3.2. Aplicaciones

Por su alto poder tintorial (dos veces más que los colorantes artificiales) y la tonalidad del color sin cambio en un intervalo amplio de pH (de 3 a 7), las betalaínas son compuestos tecnológicamente muy atractivos como colorantes naturales en alimentos (Aceituno V, 2010).

Se ha sugerido aplicar las betalaínas en la elaboración de productos cárnicos embutidos. Esto se sugirió porque los nitritos han causado controversia por su implicación en la síntesis de nitrosaminas. Se considera que la mezcla de betalaínas y de sorbato de potasio puede sustituirlos. En embutidos elaborados con carne de pollo se ha observado que el color producido por las betalaínas es más estable que el que se produce con los nitritos, sin alterar el sabor (V. Aceituno, 2010).

Entre las aplicaciones más comunes se encuentran:

- Vitaminas y suplementos alimenticios
- Yogur y productos lácteos
- Preparados de frutas, jaleas y mermeladas
- Bebidas en polvo
- Productos cárnicos
- Dulces duros

En el ámbito de la salud, se cree que el consumo de betalaínas ayuda al cuerpo a reducir las toxinas que rodean las células y permite a los nutrientes esenciales llegar a cada célula; las betalaínas reducen la inflamación en el cuerpo (Nopalife-blog, 2013).

La investigación científica muestra que las betalaínas ayudan a reducir el riesgo de coágulos en la sangre, protegiendo las membranas de los vasos sanguíneos; esto ayuda a reducir la inflamación y evitar la formación de coágulos, además de reducir el colesterol malo debido a su poder antioxidante (Nopalife-blog, 2013).

2.3.3. Fuentes

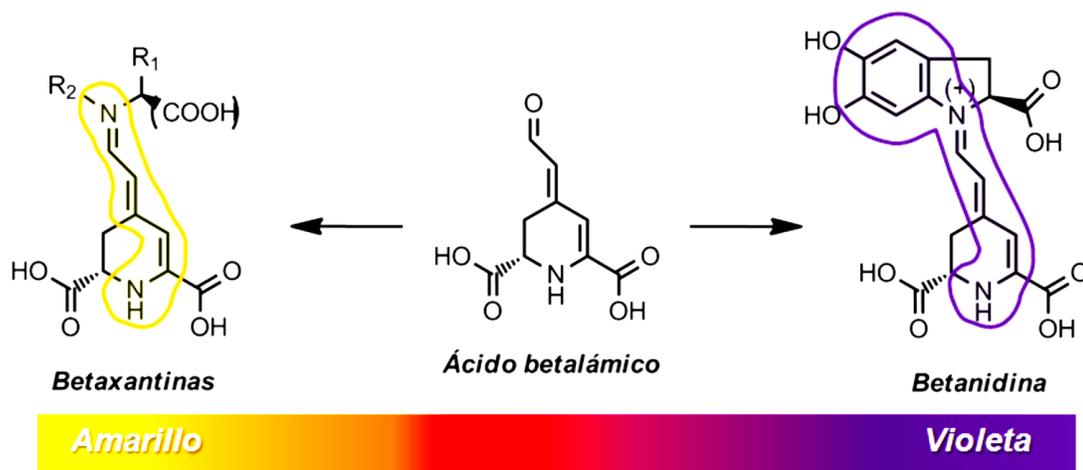
Las betalaínas se encuentran en pocas plantas y flores, entre las que destaca la remolacha roja (*Beta Vulgaris*), la pitahaya, la tuna roja y otras familias del orden Centrospermae. Es importante destacar que las betacianinas y las antocianinas no coexisten en la misma planta ni en la misma familia. Sin embargo, las betacianinas pueden coexistir con otras clases de pigmentos flavonoides.

Aunque es la remolacha roja la fuente de betalaínas más estudiada y utilizada hoy en día, también están presentes en numerosas flores, frutas y verduras como clavel y amaranto, higos chumbos y frutas tropicales, acelgas y champiñones, entre otras (Laboratorio de Color y Calidad de Alimentos, 2014).

2.3.4. Reacciones químicas para obtención de Betalaínas

Las betalaínas se establecieron como grupo independiente que contenían en su estructura un sistema 1,7-diazaheptametileno puesto que todas contienen una molécula de ácido betalámico condensada con un grupo amino formando una base de Schiff.

Figura II-5: Coloración de compuestos dentro de las Betalaínas



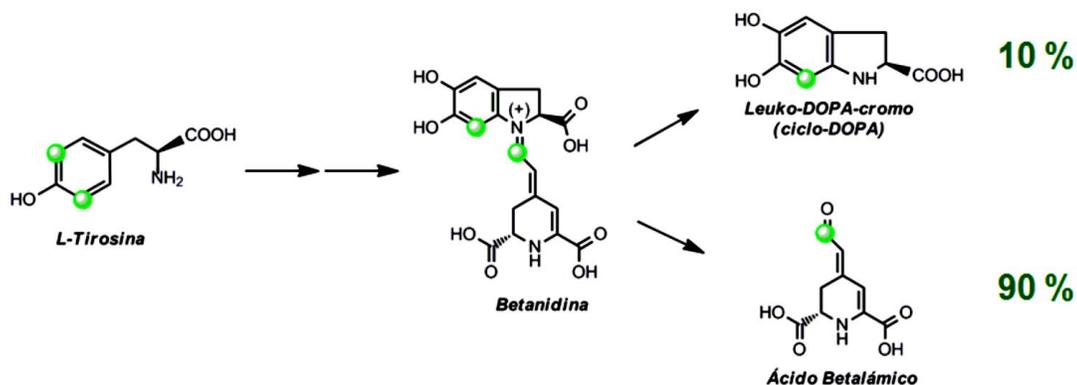
Fuente: Proyecto de investigación, Betalaínas, compuestos fenólicos y actividad antioxidante en la remolacha, García Carmona, 2012

Se subdividen en dos grupos: Betacianinas de color rojo-violeta y betaxantinas de color amarillo. Así, las betacianinas presentan un espectro en el visible con un máximo a 536 nm y presentan en su estructura glicosilaciones o acilglicosilaciones unidos a uno o dos de los grupos hidroxilos que tienen dando una gran complejidad estructural que al ser tratada con hidróxido de potasio toman el color amarillo característico de las mismas y por su parte, las betaxantinas que tienen un espectro de absorción en el visible con un máximo a 480 nm y no poseen glicosilaciones en su estructura se tratan con amoníaco para evidenciar el color violeta característico de la molécula (García C, 2012)

- **Síntesis biológica de Betalaínas**

La ruta de biosíntesis de betalaínas se empezó a conocer en 1972 (Fischer y Dreiding) mediante un experimento con marcaje radiactivo de los llamados de “pulso y caza”.

Figura II-6: Síntesis biológica de Betalaínas



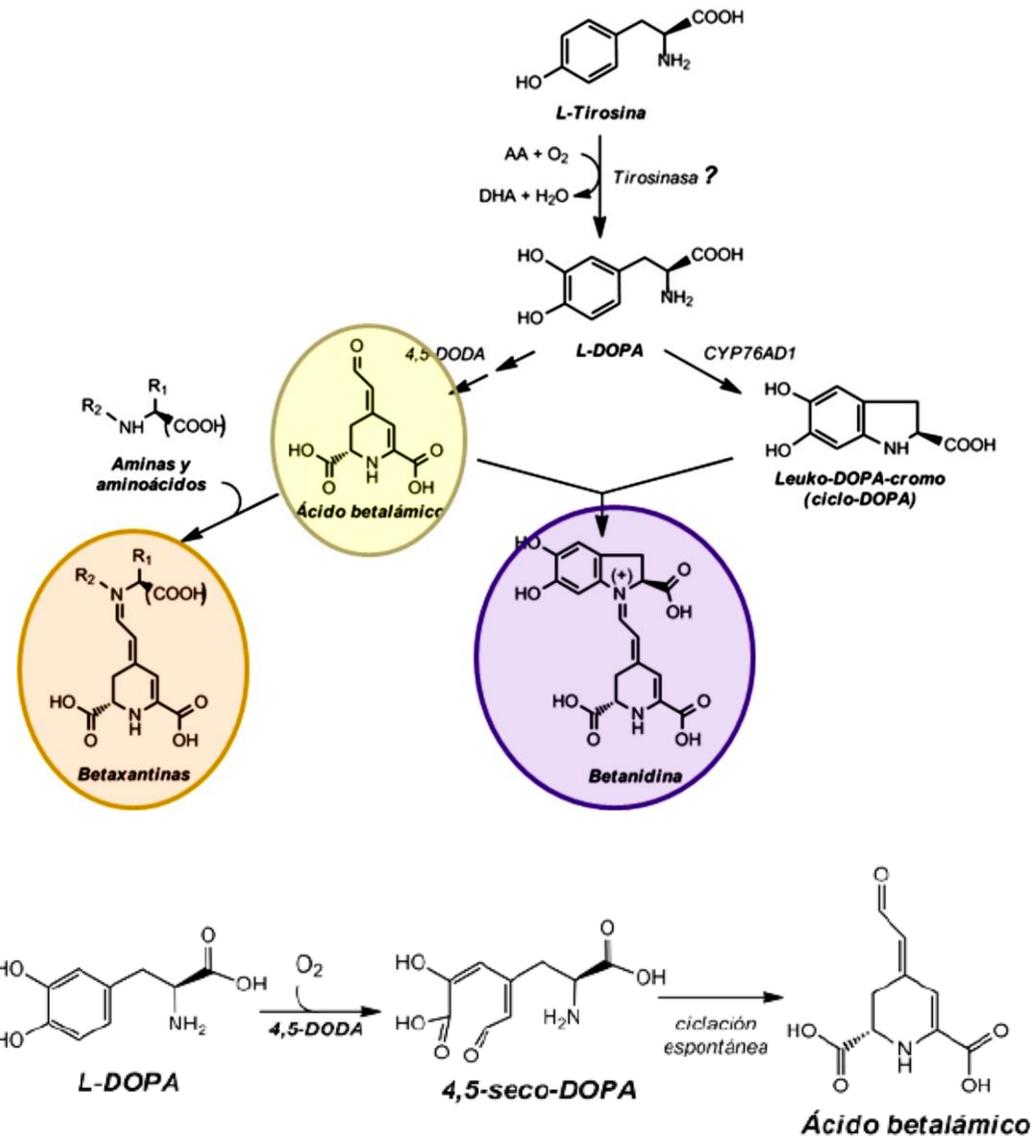
Fuente: Proyecto de investigación, Betalaínas, compuestos fenólicos y actividad antioxidante en la remolacha, García Carmona, 2012

Estos datos son compatibles, en el caso del ciclo-DOPA, con la ruta de pardeamiento enzimático en vegetales. Esta ruta se inicia con la transformación de unas moléculas de L-Tirosina a L-DOPA por la actividad hidroxilasa de la enzima Tirosinasa utilizando oxígeno molecular y siguiendo la ruta del pardeamiento enzimático en vegetales, la molécula de L-DOPA es transformada en o-DOPA-quinona. Esta etapa está catalizada por la actividad oxidasa de Tirosinasa también a expensas de oxígeno

molecular. La enzima Tirosinasa se encuentra distribuida ampliamente en el mundo vegetal por lo que podemos suponer que se encuentra disponible para realizar ambas etapas (García C, 2012).

También se han encontrado glucosil-transferasas específicas para glucosilar al ciclo-DOPA a ciclo DOPA 5-O-glucósido, lo que permite obtener betanidina por unión de esta molécula con ácido betalámico (García C, 2012).

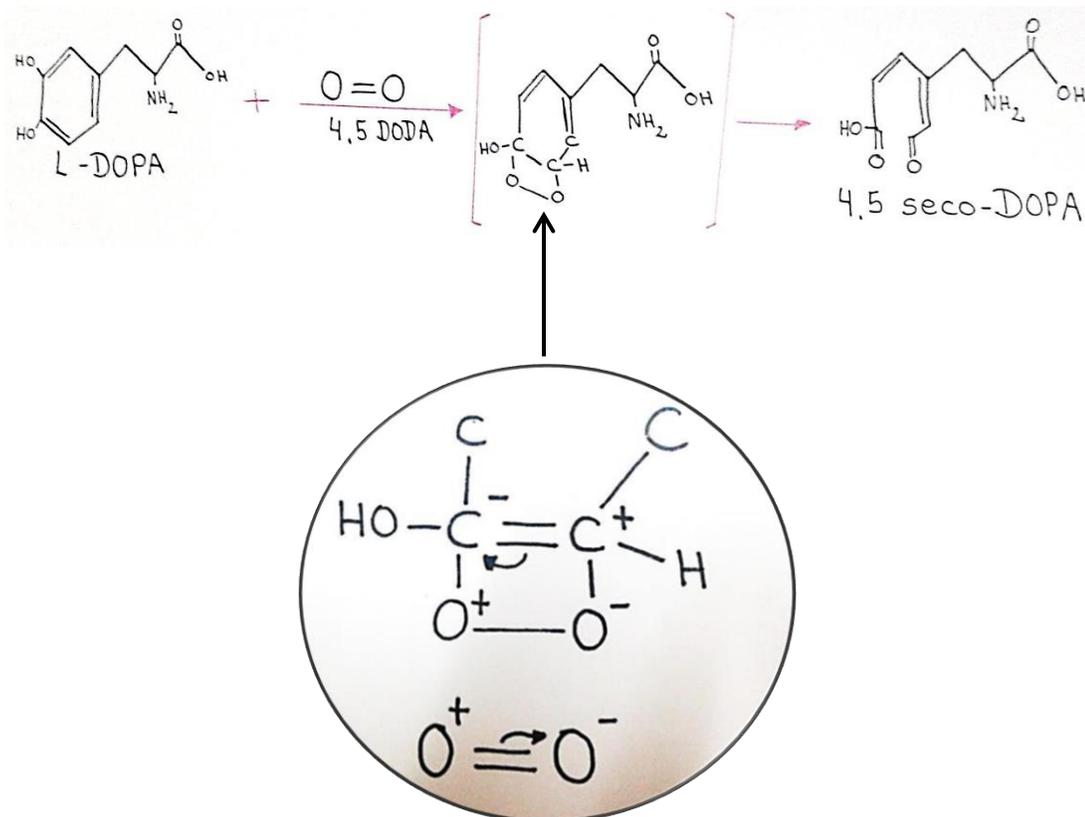
Figura II-7: Síntesis química del ácido betalámico



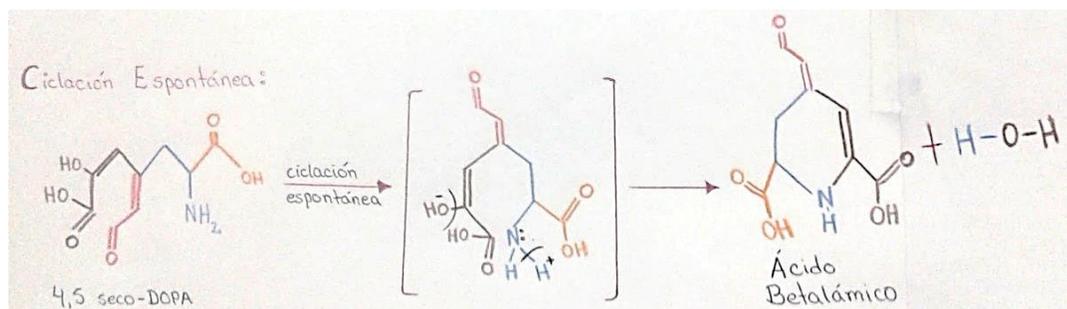
Fuente: Proyecto de investigación, Betalainas, compuestos fenólicos y actividad antioxidante en la remolacha, García Carmona, 2012

Figura II-8: Mecanismo de reacción para síntesis de ácido betalámico

Oxidación enzimática



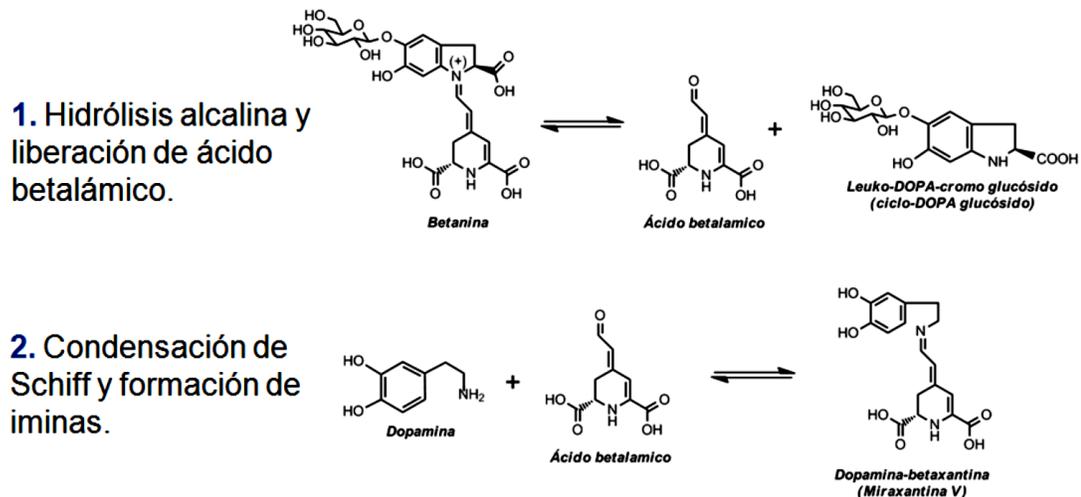
Ciclación espontánea



Fuente: Elaboración propia

La síntesis química del ácido betalámico es muy complicada y con muy bajo rendimiento, es un proceso de semisíntesis donde se aprovecha la fuente de ácido betalámico que la naturaleza nos proporciona en forma de betalaína en el tubérculo de remolacha roja (*Beta Vulgaris*) (García C, 2012).

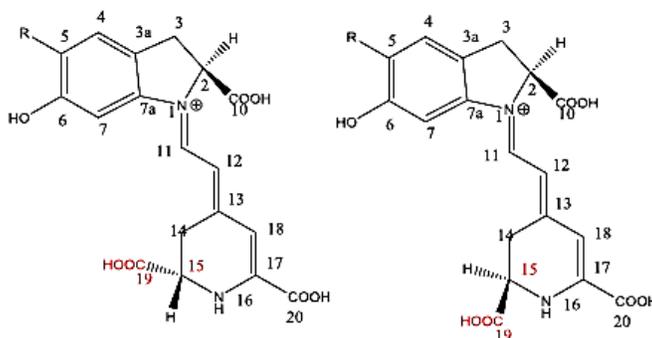
Figura II-9: Reacciones Químicas de las Betalaínas



Fuente: Proyecto de investigación, Betalaínas, compuestos fenólicos y actividad antioxidante en la remolacha, García Carmona, 2012

Las betacianinas (pigmentos rojos), tienen como principal componente a la betanina que se encuentra en una proporción de 75 a 95% del total de betalaínas. (Sánchez, 2006)

Figura II-10: Estructura básica de las Betacianinas más abundantes



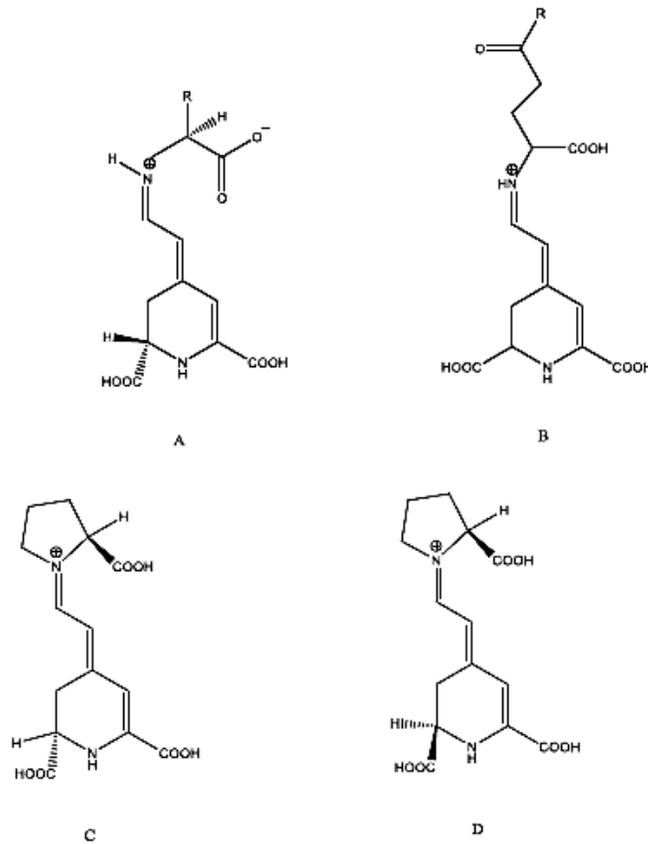
- | | | | |
|--------------|--------------------------------------|-----------------|--------------------------------------|
| • Betanina | R= -5-O-glucosa | • Isobetanina | R= 5-O-glucosa |
| • Betanidina | R= -OH | • Isobetanidina | R= -OH |
| • Amarantina | R= -ácido 2'-
glucurónico-glucosa | • Isoamarantina | R=-ácido-2'-
glucurónico-glucosa. |

Fuente: Proyecto de investigación, Aislamiento y caracterización in-vitro de los pigmentos, Betancourt Omaira, 2015

De las Betaxantinas (pigmentos amarillos), se tienen pocos datos ya que han sido poco estudiadas, debido principalmente a que son más difíciles de aislar.

En el caso de las Betaxantinas el sustituyente R_1 en la Figura II-2 es un amino o aminoácido y R_2 es usualmente un hidrógeno. (Sekiguchi, 2010)

Figura II-11: Estructura básica de las Betaxantinas más abundantes



A) Estructuras básica de las betaxantinas. B) vulgaxantina I si R= NH₂ y II si R=OH. C) indicaxantina D) isoindicaxantina

Fuente: Proyecto de investigación, Aislamiento y caracterización in-vitro de los pigmentos, Betancourt Omaira, 2015

2.3.5. Factores que afectan la Estabilidad de la Betalaína

La estabilidad es un factor importante a considerar para la utilización de estos pigmentos como colorantes y/o antioxidantes en alimentos. Esta ha sido estudiada en pigmentos obtenidos de: Remolacha, tuna púrpura y amaranto.

Se ha establecido que los principales factores que influyen en la estabilidad de las betalaínas son:

- **Temperatura:** La degradación de las betalaínas depende de la temperatura y sigue una cinética de reacción de primer orden, dependiente del pH (Castellar et al, 2003).

Al calentar soluciones de betalaína a temperaturas mayores a 80°C durante más de una hora, se acelera la hidrólisis y 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 en el rango de pH entre 3,5-7, rango en el que se encuentran la mayoría de los alimentos; fuera de este rango el color decrece. El pH óptimo para la estabilidad de las betalaínas de remolacha, en presencia de oxígeno se encuentra a pH 5,5-5,8; mientras que en condiciones anaeróbicas a pH 4,0-5,0 (Huang y von Elbe, 1985).

- **Actividad de agua (aw):** Las betalaínas presentan mayor estabilidad en alimentos o sistemas modelo con un bajo contenido de humedad y aw, debido a que el agua está menos disponible para que ocurran reacciones químicas. Valores de aw por debajo de 0,63 mejoran la estabilidad de la betalaína de beterraba (Vargas D, 2000).

Además, métodos para reducir la aw, como la concentración y el secado por atomización han demostrado proporcionar estabilidad a las betalaínas, en pigmentos provenientes de tuna púrpura y de amaranto (Cai y Corke, 2000).

- **Luz:** Existe una relación inversa entre la estabilidad de las betalaínas de betarraga y la exposición a la luz. El índice de degradación de la betalaína es del 15.6 % al exponerse a la luz solar a 15 °C

La degradación de betalaínas sigue una cinética de primer orden que es oxígeno dependiente, ya que los efectos de la exposición a la luz son insignificantes bajo condiciones anaerobias (Attoe y von Elbe, 1981).

Otros autores, observaron que la adición de 0,1% de ácido isoascórbico y 1% de ácido ascórbico a jugo de beterraba y pitaya inhibió la degradación inducida por la luz durante el almacenamiento de betacianina (et al., 2006).

- **Oxígeno:** Según lo observado por Attoe y von Elbe (1985), en betalaínas de beterraba, estas reaccionan con el oxígeno molecular, causando el oscurecimiento del producto y la pérdida del pigmento. La betalaína se degrada en un 15 % cuando es expuesta al aire durante 6 días a 15 °C a pH 7. La estabilidad de la betalaína 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 (Drunkler et al. 2006).

2.4. Métodos de Extracción de Betalaínas

Industrialmente, la betalaína se extrae de las raíces de remolacha a través de diversos procesos de obtención de jugo.

Todos los procesos de extracción industrial se basan en su hidrosolubilidad y en general requieren una inactivación enzimática para evitar hidrólisis de las betalaínas.

2.4.1. Extracción por Soxhlet

Este método permite la extracción de la betalaína mediante un equipo integrado por un extractor, un condensador especial de tipo bulbo y un matraz. Funciona por ciclos condensando y evaporando el solvente que puede ser un bioalcohol, de esta manera se separa el componente de interés y se recupera el solvente (Cardona E, 2006).

2.4.2. Extracción por Fermentación

La fermentación es un tipo de catabolismo parcial, que se caracteriza por ser un proceso de oxidación incompleta, típico de los organismos anaeróbicos. Se realiza, pues, sin la intervención del oxígeno dejando la pulpa de remolacha rallada y alcohol en la incubadora durante tres días a 60°C. Durante la fermentación de la remolacha para la obtención de la betalaína, la energía obtenida procede, igual que en la respiración aerobia, de las reacciones de óxido-reducción habidas durante el

catabolismo de la glucosa (glucólisis), pero en la fermentación las coenzimas reducidas no ceden sus electrones a una cadena cuyo aceptor final es el oxígeno, sino que los ceden directamente a un compuesto orgánico que se reduce y es el producto característico de cada fermentación (láctica, alcohólica) (Radler, 1982).

2.4.3. Extracción por Cristalización

La cristalización es una operación de transferencia de materia en la que se produce la formación de un sólido (cristal o precipitado) a partir de una fase homogénea (soluto en disolución o en fundido). (Castillo, 1999).

Separación de disoluciones en la que las condiciones se ajustan de tal forma que solo puede cristalizar la betalaína (soluto) permaneciendo el metanol (solvente) en la disolución. En este proceso, una sustancia sólida (betalaína) con una cantidad muy pequeña de impurezas se disuelve en un volumen mínimo de disolvente (alcohol metílico al 95%) luego se somete a calentamiento, molienda y recolección del producto (LUGO, 1998).

2.4.4. Extracción por Micropartículas

Las micropartículas de pulpa de remolacha (P) y extracto ultrafiltrado (UF) se prepararán por secado por atomización, utilizando Capsul (C) y K-4484 (K) como agentes encapsulantes (P-C, P-K, UF-C y UF-K).

Para la elaboración de las micropartículas se consideran 100 g de dispersión de alimentación. C y K (5,5-51,72 g) se disuelven en agua destilada (64,5 – 18,28 g) con agitación constante y temperatura (sobre 82°C para Capsul y sobre 70°C para K-4484). Luego, se enfría hasta 30°C (para evitar la degradación de las betalaínas) y se agrega P o UF (30 g). Finalmente la dispersión se homogeniza por 3 minutos con un homogeneizador Polytron PT 2100 a 11000 rpm. Las soluciones resultantes se alimentan a un mini secador B-290 (Suiza), con alimentación y flujo de aire en paralelo. Las condiciones de secado son: temperatura del aire de entrada al secador 133-219°C para los sistemas con Capsul (P-C y UF-C) y 110-217°C para los sistemas con K4484 (P-K y UF-K). El flujo de aire, la razón de alimentación y la presión de

atomización es 600 L/h, 3 mL/min (5%) y 5 bar, respectivamente para todos los sistemas estudiados. Las micropartículas obtenidas son almacenadas en oscuridad y a -20°C hasta ser analizadas (Vergara C, 2013).

2.4.5. Extracción por Centrifugado

Este método se realiza mediante un corte transversal de la remolacha controlando parámetros de espesor de corte y posterior baño de inmersión con solvente etanol a una temperatura no mayor de 45°C durante un periodo de tiempo de una a tres horas con la finalidad de separar el metabolito secundario que corresponde a la betalaína del tejido parenquimático de la remolacha; una vez realizada esta operación se procede a realizar el centrifugado para la obtención del jugo concentrado de la parte sólida.

El líquido concentrado se somete a un proceso de evaporación al vacío con la finalidad de conservar las propiedades del producto y a su vez recuperar el solvente utilizado. Una vez realizado este proceso se almacena el colorante concentrado en frascos de vidrio con tapa, reservándolo en un lugar fresco y seco. (Elaboración propia)

2.4.6. Extracción por Compresión

Para realizar este proceso se debe preparar la materia prima rallada con la finalidad de incrementar la superficie de contacto; posteriormente se deposita la muestra en un vaso de precipitado y se somete a agitación junto con el solvente (etanol) por el lapso de 1 a 3 horas (dependiendo de la concentración del solvente) y a una temperatura no mayor a 45°C; posteriormente se traslada el producto a un embudo bushner para separar la parte sólida del líquido; la parte sólida que queda luego de la filtración, se somete a un proceso de compresión para obtener mayor rendimiento de la extracción y esto se reserva junto con el líquido extraído de la filtración. Luego de ello se transfiere el jugo concentrado a un rota-vapor para recuperar el solvente y las propiedades del producto. Una vez realizada esta operación se almacena en frascos de vidrio, en un lugar fresco y seco. (Elaboración propia).

2.5.Descripción de solventes

2.5.1. Alcohol Etilico

El alcohol etílico, también conocido como etanol C_2H_5OH es el segundo alcohol más simple. Todos los átomos de carbono y oxígeno son sp^3 permitiendo la rotación libre de los límites de las moléculas. El etanol es un líquido transparente, incoloro con un olor característico y un sabor ardiente (Royal Society of Chemistry, 2015).

La masa molar del alcohol etílico es de 46,06 g / mol. Su punto de fusión y de ebullición son de $-114\text{ }^\circ\text{C}$ y $78\text{ }^\circ\text{C}$, respectivamente. Es un líquido volátil y su densidad es 0.789 g/ ml. Es miscible con agua y en la mayoría de los disolventes orgánicos tales como ácido acético, acetona, benceno, tetracloruro de carbono, cloroformo y éter; tiene además una constante dieléctrica de 24. Un hecho interesante es que el etanol es también miscible en disolventes alifáticos tales como pentano y hexano, pero su solubilidad depende de la temperatura (National Center for Biotechnology, 2017).

El etanol es el representante más conocido de los alcoholes. En esta molécula, el grupo hidroxilo está en un carbono terminal, dando como resultado una alta polarización de la molécula. En consecuencia, el etanol puede formar fuertes interacciones, como los enlaces de hidrógeno y la interacción dipolo-dipolo. En agua, el etanol es miscible y las interacciones entre los dos líquidos son tan altas, que dan lugar a una mezcla conocida como azeotropo, con características diferentes a los dos componentes (National Center for Biotechnology, 2017).

2.5.2. Agua

El agua, denominada como el disolvente universal, es la mejor elección como disolvente, desde un punto de vista medioambiental, ya que no es ni inflamable, ni tóxica, aunque presenta el inconveniente de tener una baja solubilidad con las resinas. El elevado momento dipolar del agua y su facilidad para formar puentes de hidrógeno hacen que el agua sea un excelente disolvente. Una molécula o ion es soluble en agua si puede interactuar con las moléculas de la misma mediante puentes de hidrógeno o

interacciones del tipo ion-dipolo. Solubilidad de iones en agua con aniones que tengan átomos de oxígeno, pueden formar puentes de hidrógeno, dado que el oxígeno actúa como aceptor de los mismos. Además, hay que tener en cuenta la atracción del anión sobre el dipolo del agua. (Hernández F, 2008)

Conforme aumenta la temperatura y la presión, las propiedades del agua varían. Por ejemplo, la constante dieléctrica disminuye y se hace más similar a la de los disolventes orgánicos, empeorando la solubilización de sustancias iónicas. A alta temperatura y presión disuelve compuestos orgánicos, transcurriendo los procesos en fase homogénea y con ello se facilita la separación del soluto (por enfriamiento), siendo capaz de eliminar residuos. (Hernández F, 2008)

A medida que la constante dieléctrica del medio crece, la fuerza entre las cargas decrece. La constante dieléctrica, es una medida de las propiedades de un solvente para mantener cargas opuestas separadas. En la siguiente Tabla, se muestra la constante dieléctrica de etanol y agua, así como sus momentos dipolares permanentes (Hernández F, 2008)

Tabla II-5: Valores de constante dieléctrica y momento dipolar para etanol y agua.

Solvente	Constante dieléctrica (D)	Momento dipolar (debye)
Agua	78.5	1.85
Etanol	24.3	1.68

Fuente: Artículo en línea, Polaridad de un disolvente, Instituto de Química UNAM, 2013

3. Capítulo III

Parte Experimental

3.1.Descripción del método de investigación

En la producción de remolacha a nivel nacional, actualmente no existe aprovechamiento de la remolacha que genere un valor agregado ya que el mercado sobre el cual se maneja es del productor al consumidor, razón por la cual se plantea la presente investigación como una alternativa para el aprovechamiento de esta hortaliza, específicamente de la raíz de remolacha para la extracción del colorante Betalaína, el cual, al ser un colorante natural (con alto valor antioxidante), es además una opción más saludable de consumo que los colorantes artificiales ya que en Bolivia actualmente no se cuenta con normas establecidas que regulen el consumo de estos colorantes, lo que convierte a los colorantes de tipo natural como una mejor alternativa de consumo y abala las bases para la realización de esta investigación.

Para el desarrollo del presente proyecto, la parte experimental comprende tres partes: la primera consiste en la selección del solvente a utilizarse; para ello, se evalúan dos tipos de solventes (etanol al 96% y agua), en los cuales se evalúan cualitativamente eficiencias de extracción y en base a ellos se elige el solvente más adecuado.

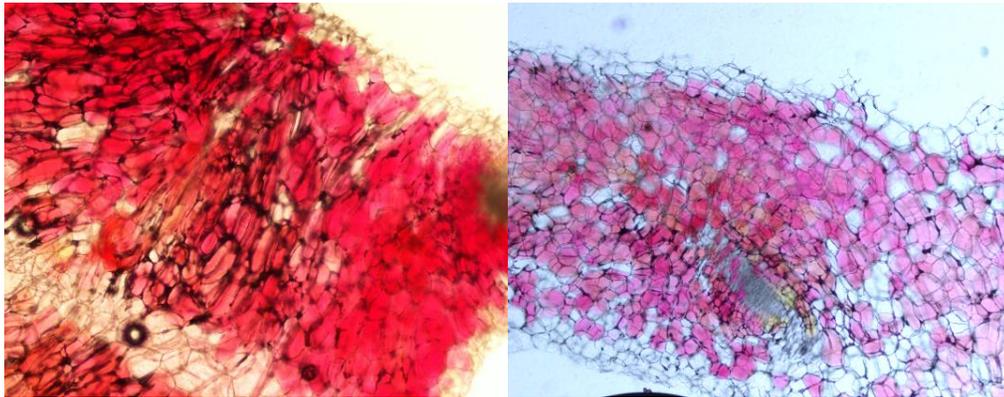
La segunda parte comprende la selección del método más apropiado para la extracción de Betalaínas; por el cual se evalúan datos de rendimiento y en base a los mismos, se procede a elegir el que presente un mayor rendimiento durante su aplicación y de esta manera dar paso a efectuar la tercera parte del proceso.

La tercera parte percibe el desarrollo del diseño experimental donde se manejan las variables manipulables y variable fija del proceso para la elaboración de una curva patrón mediante espectrofotometría.

3.1.1. Caracterización microscópica del colorante.

Para seleccionar el mejor método de extracción se realiza una visualización microscópica del tejido celular de la remolacha con la finalidad de conocer el lugar de almacenamiento del colorante dentro de la materia prima.

Figura III-1: Vista microscópica de colorante en remolacha



Fuente: Elaboración propia

Como se puede apreciar en la fotografía tomada desde el microscopio, el colorante se almacena alrededor de todo el tejido parenquimatoso de la tuberosa haciendo que esta obtenga el color rojo característico de la misma. Dicha apreciación nos lleva a confirmar que no es necesario romper paredes celulares del tejido ya que las betalaínas están almacenadas por encima de éste, haciendo el proceso de extracción por simple barrido con solvente una alternativa viable para el trabajo de investigación.

3.1.2. Selección del Tipo de Solvente

Para determinar el solvente adecuado se considera el solvente con mayor capacidad de extracción. En la tabla III-1 se describen las ventajas y desventajas.

Tabla III-1: Selección del tipo de solvente

Tipo de Solvente	Ventajas	Desventajas
Agua	<ul style="list-style-type: none"> *Solvente más económico con respecto al etanol. *Sustancia amigable con el medio ambiente. 	<ul style="list-style-type: none"> *Bajo poder de extracción de Betalaínas. *El solvente debe ser calentado hasta su punto de ebullición por lo cual daría lugar a la degradación de las propiedades del producto.
Etanol al 96%	<ul style="list-style-type: none"> *Extrae mayores cantidades de Betalaínas que el agua. *Sustancia no controlada comercialmente. 	<ul style="list-style-type: none"> *Mayor precio de comercialización con respecto al agua. *Resulta ser un poco más tóxica con el medio ambiente.

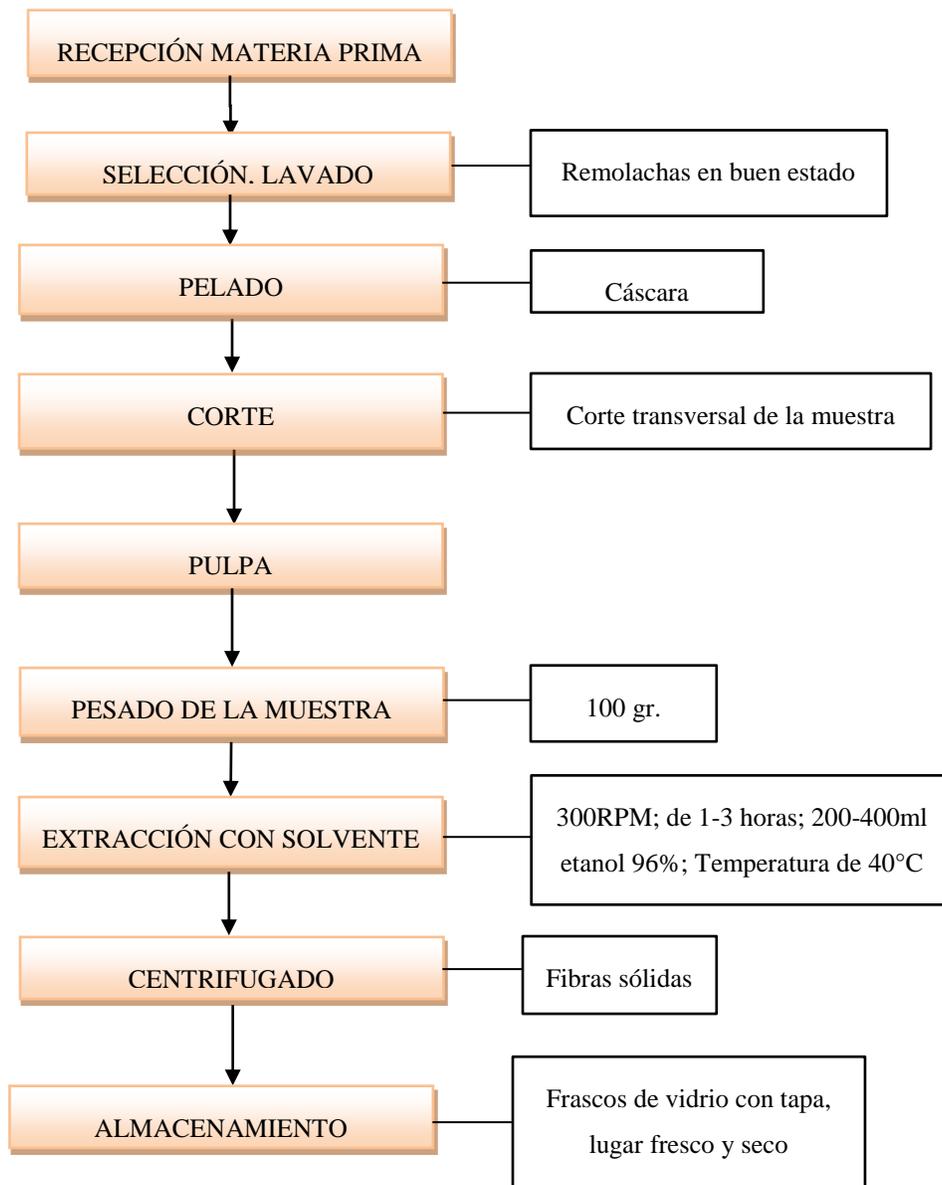
Fuente: Elaboración Propia

Por cuanto se refiere a pruebas efectuadas en laboratorio, se elige el solvente que proporciona una mayor extracción, basando dicha selección en un nivel comparativo tintorial de cada solvente sometido a condiciones igualitarias de corte, temperatura y tiempo de tratamiento para la materia prima. De esta manera se elige etanol al 96% como solvente para realizar la extracción correspondiente durante el proceso de obtención del colorante. (Ver anexo 3)

En los siguientes diagramas se describe los procesos de obtención de Betalaína.

3.1.3. Proceso de obtención de Betalaína por Centrifugado

Diagrama III-1: Diagrama de Bloques por Centrifugado



Fuente: Elaboración propia

3.1.3.1.Recepción de la materia prima

La remolacha de la variedad Detroit es proveniente del municipio El Puente ubicado en la provincia Méndez.

Figura III-2: Ubicación geográfica del municipio El Puente



Fuente: Google Maps 2017

Figura III-3: Remolacha variedad Detroit proveniente del municipio El Puente



Fuente: Elaboración Propia

- **Caracterización de la materia prima**

Para caracterizar la materia prima se determinan parámetros cualitativos y cuantitativos como ser: color rojo intenso, humedad, sólidos solubles, pH, azúcares totales y azúcares reductores en el Centro de Análisis, Investigación y Desarrollo. CEANID (ver tabla IV-1).

Tabla III-2: Características físicas de la materia prima

1 ración (100 gr)	100 gr
Pulpa	92 gr
Cáscara	8 gr
Humedad	85.58%
Betalainas*	1309 mg/L

Fuente: Elaboración propia

*Dato bibliográfico (ver tabla II-4; ver anexo 8)

3.1.3.2. Selección y Lavado

La selección de remolachas se basa en su buen estado de maduración ya que no presenta signos de deshidratación.

El lavado se efectúa por inmersión con agua para disminuir residuos externos post-cosecha, como partículas de tierra y suciedades.

Figura III-4: Remolachas seleccionadas y lavadas

Fuente: Elaboración Propia

3.1.3.3. Pelado

El pelado se realiza de forma manual utilizando un cuchillo para separar la pulpa de la cáscara que no contiene betalaínas (ver figura II-3) además de que interfiere en la calidad del producto, por lo que se la desecha del proceso determinándose su fracción o porcentaje.

Figura III-5: Remolacha pelada manualmente



Fuente: Elaboración Propia

3.1.3.4. Corte

Se realiza un corte transversal de 0,85 mm de espesor utilizando mandolina manual, con la finalidad de incrementar la superficie de contacto ya que **la caracterización microscópica realizada reveló que el colorante se encuentra sobre el tejido de la tuberosa (ver figura III-1).**

Figura III-6: Corte transversal de la remolacha



Fuente: Elaboración Propia

3.1.3.5. Pesado de la muestra

Se pesa con balanza analítica (especificación técnica, ver anexo 9) 100gr de la muestra o materia prima a utilizarse durante el proceso, esto con la finalidad de calcular rendimientos y pérdidas durante el proceso de obtención.

Figura III-7: Pesado de la materia prima



Fuente: Elaboración Propia

3.1.3.6. Extracción con Solvente

Luego de tener la remolacha cortada correctamente se procede a verterla en un baño de inmersión con 200 ml de etanol al 96% (ya que al ser un solvente polar es un buen extractor del colorante) durante una hora a una temperatura de 40°C (se elige esta temperatura para conservar propiedades del colorante, además para conservar la mayor cantidad de solvente ya que el punto de ebullición del etanol es de 78°C), en un agitador magnético a 300rpm (especificación técnica, ver anexo 9).

Figura III-8: Extracción con solvente en agitador magnético



Fuente: Elaboración Propia

El motivo por el cual se aísla la muestra es para evitar contaminación de agentes externos además de conservar vestigios de solvente que puedan evaporarse.

3.1.3.7. Centrifugado

El producto que se obtiene de la extracción con solvente se traslada a una centrifugadora (especificación técnica, ver anexo 9) con la finalidad de separar la parte sólida del jugo de betalaínas, se trabaja a 2000 rcf con aceleración de 300 rpm/seg, temperatura de 40°C (para no afectar propiedades del colorante ni evaporar solvente) durante una hora, de esta manera obtener el colorante líquido junto con el solvente.

Figura III-9: Centrifugadora



Fuente: Elaboración Propia

3.1.3.8. Almacenamiento

Una vez obtenido el colorante junto con el solvente, se recolectó y almacenó en frascos de vidrio para evaluar rendimientos de obtención y de esta manera se eligió el método más adecuado.

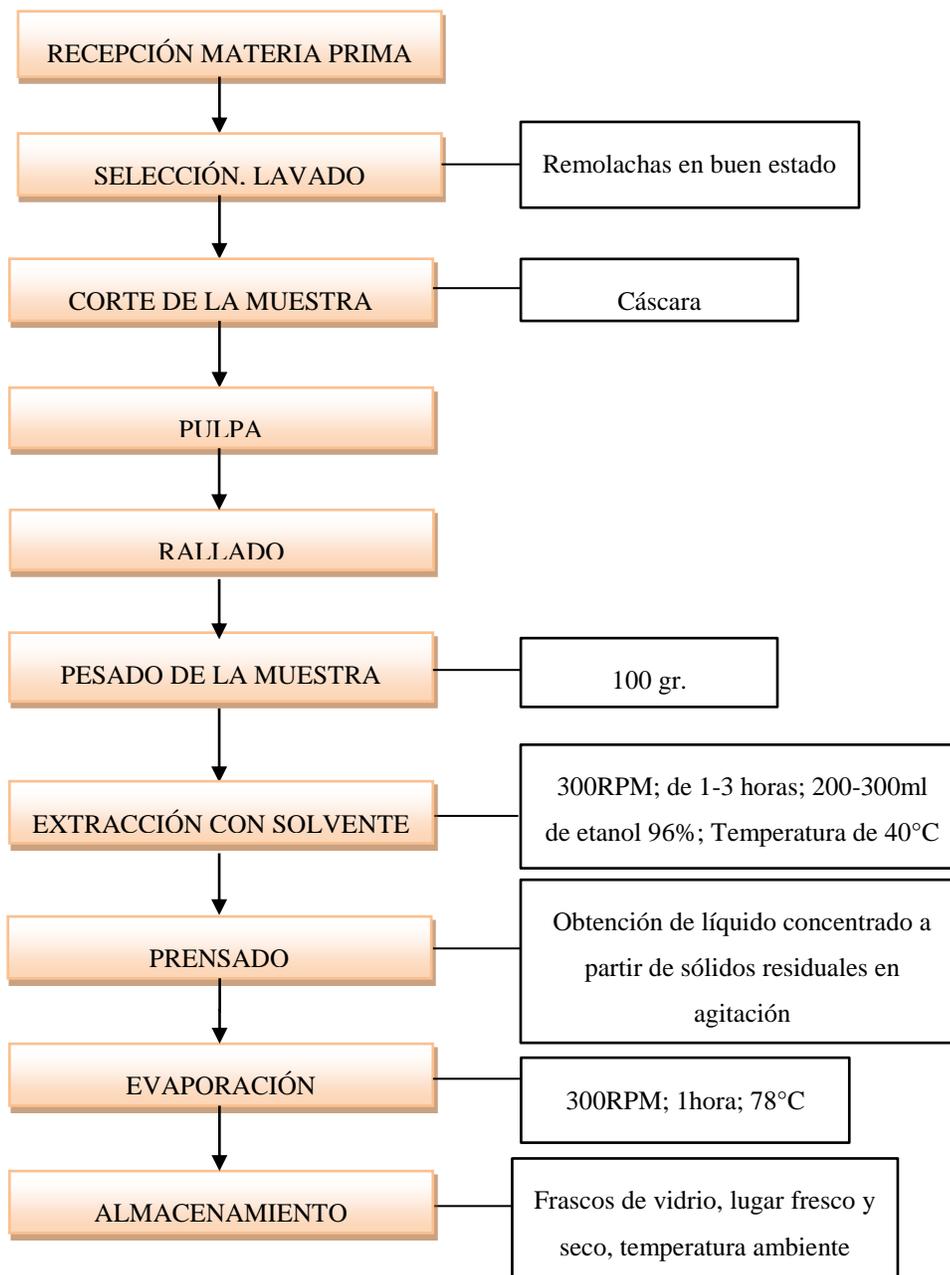
Figura III-10: Almacenamiento del producto en frascos de vidrio



Fuente: Elaboración Propia

3.1.4. Extracción por Compresión

Diagrama III-2: Diagrama de Bloques del Proceso de Extracción por Compresión



Fuente: Elaboración propia

3.1.4.1.Recepción de la materia prima

IDEM 3.1.4.1 pág. 44

3.1.4.2.Selección y Lavado

IDEM 3.1.4.2 pág. 45

3.1.4.3.Pelado

IDEM 3.1.4.3 pág. 46

3.1.4.4.Rallado

Se realiza un rallado de 0,25 mm de espesor utilizando un rallador manual con la finalidad de incrementar la superficie de contacto ya que las betalaínas se almacenan alrededor de todo el tejido y de esta manera se facilita el proceso de extracción del colorante.

Figura III-11: Rallado de la Remolacha



Fuente: Elaboración Propia

3.1.4.5. Pesado de la muestra

Se procede a pesar 100gr de muestra utilizando balanza analítica (especificación técnica, ver anexo 9), con la finalidad de determinar rendimientos y pérdidas durante el proceso de obtención.

Figura III-12: Pesado de muestra



Fuente: Elaboración Propia

3.1.4.6. Extracción con solvente

En esta etapa se procede a integrar la muestra con 200 ml del solvente (etanol al 96%) en un agitador magnético a 300 RPM (especificación técnica, ver anexo 9) con una temperatura de 40°C y durante un lapso de una hora.

Se fijan estos parámetros para evitar desnaturalización del colorante, además para evitar evaporación del solvente.

Figura III-13: Extracción con solvente en agitador magnético



Fuente: Elaboración Propia

3.1.4.7. Filtración

Una vez culminada la agitación se procede a separar la parte líquida de la parte sólida residual, mediante un proceso de filtración simple en el cual se utilizan como medios filtrantes un embudo bushner conectado a un quitasato y una trompa de agua conectada a un grifo como se observa en la figura III-17.

Figura III-14: Filtración del producto



Fuente: Elaboración Propia

3.1.4.8. Prensado

El residuo sólido extraído de la filtración se somete a prensado con la finalidad de incrementar el rendimiento del proceso; los líquidos que se extraen del prensado se integran al líquido obtenido de la filtración para su posterior almacenamiento.

Figura III-15: Prensado de los sólidos residuales



Fuente: Elaboración Propia

No se realiza una segunda extracción con las fibras sólidas salientes de la filtro-prensa (especificación técnica, ver anexo 9) ya que no contienen cantidades significantes de colorante. (ver anexo 4)

3.1.4.9. Evaporación

Al evidenciar éste como el método con mayor rendimiento se toma la mezcla de líquido extraído de la filtración y prensado con un porcentaje de alcohol del 75% para someterlo a un proceso de evaporación utilizando el rota-evaporador (especificación técnica, ver anexo 9) a una temperatura de 78°C durante un periodo de tiempo de una hora para concentrar el colorante hasta que el porcentaje de alcohol sea del 50% y recuperar el solvente sin alterar propiedades del producto ya que el vacío reduce la presión del sistema a 27 Kpa).

Figura III-16: Evaporación y concentración del colorante en rota-vapor



Fuente: Elaboración Propia

3.1.4.10. Almacenamiento

El colorante concentrado extraído de la evaporación, se recolecta y almacena en tubos de ensayo con tapones de goma, conservándolo en un lugar fresco y seco a temperatura ambiente (ver tabla IV-2).

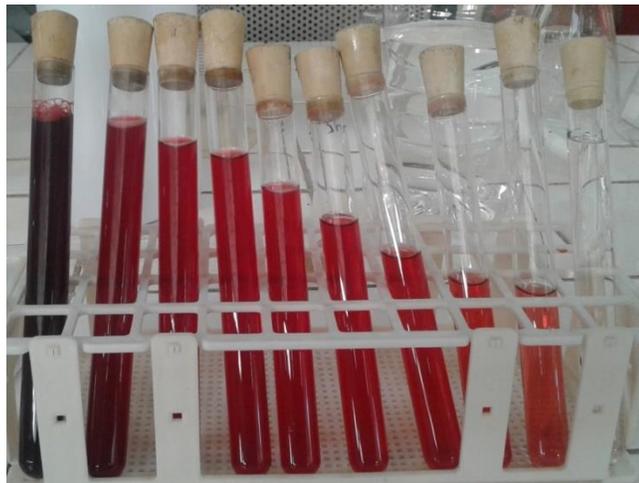
Figura III-17: Almacenamiento del líquido obtenido



Fuente: Elaboración Propia

3.1.4.11. **Elaboración de la solución madre e hijas para análisis de espectrofotometría.**- Se pesan las betalaínas obtenidas y se prepara la solución madre y las hijas con sus respectivas réplicas.

Figura III-18: Solución madre e hijas para la elaboración de la curva espectrofotométrica



Fuente: Elaboración Propia

- **Solución Madre (SM)**

Se pesa 1 mg de colorante y se disuelve en 5 ml de alcohol etílico al 96% y 5 ml de agua.

$$\%_{\text{OH}} = \frac{5 \text{ ml} \times 0.96}{10 \text{ ml}} \times 100 \% = 48 \%$$

$$\text{Concentración (ppm)} = \frac{1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} * 1000$$

$$\text{Concentración (ppm)} = 100 \text{ ppm}$$

Las soluciones hijas se preparan a concentraciones de 10, 20, 40, 60, 80 y 100 ppm, los volúmenes a tomar de la solución madre son calculados de la siguiente manera:

$$V = \frac{\text{ppm} \times 10 \text{ ml}}{100 \text{ ppm}}$$

- **Soluciones Hijas (SH)**

$$V_1 = \frac{10 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}}{100 \text{ ppm}} = 1 \text{ ml}$$

$$V_2 = \frac{20 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}}{100 \text{ ppm}} = 2 \text{ ml}$$

$$V_3 = \frac{40 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}}{100 \text{ ppm}} = 4 \text{ ml}$$

$$V_4 = \frac{60 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}}{100 \text{ ppm}} = 6 \text{ ml}$$

$$V_5 = \frac{80 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}}{100 \text{ ppm}} = 8 \text{ ml}$$

$$V_6 = \frac{100 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}}{100 \text{ ppm}} = 10 \text{ ml}$$

Tabla III-3: Volúmenes para las soluciones hijas

Concentración ppm	Volumen (ml) de SM	Volumen (ml) de solución etanol-agua al 48%
0	0	10
10	1	10
20	2	10
40	4	10
60	6	10
80	8	10
100	10	10

Fuente: Elaboración propia

3.1.5. Selección del Proceso

Luego de realizar la obtención de betalaínas en estado líquido junto al solvente por dos métodos, aplicando parámetros de obtención bajo las mismas condiciones de trabajo para ambos, se procede a seleccionar el método con el mayor rendimiento para efectuar las variables operacionales del producto.

El método de selección y rendimiento se ve reflejado en la siguiente tabla.

Tabla III-4: Selección del Proceso para obtención de Betalaínas

Proceso	Tipo de Corte	Sto/Sve gr/ml	T (°C)	V (rpm)	Tiempo (hr)	Vol (ml) Bet+OH
Centrifugado	Transversal	1:2	40	300	1	210
Compresión	Rallado	1:2	40	300	1	224

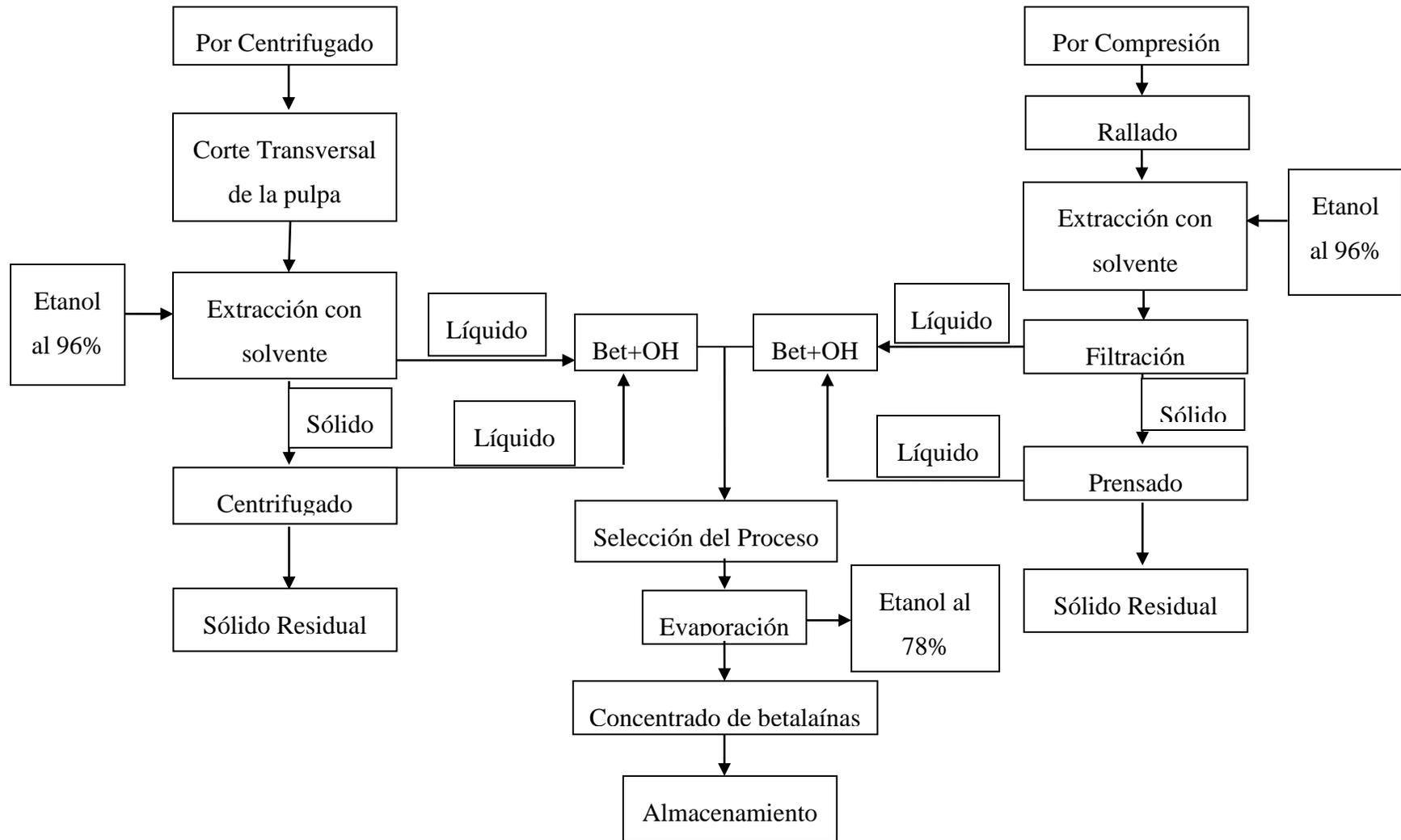
Fuente: Elaboración propia

Por consiguiente, a la anterior tabla se procede a seleccionar el método de obtención por compresión, basado en rendimiento dada la evidente superioridad del proceso de compresión, frente al de centrifugado. (Ver anexo 3)

3.1.5.1. Proceso de extracción de betalaínas de la pulpa de Remolacha

El siguiente proceso de extracción contempla la selección de los procesos realizados anteriormente, a diferencia de que se desarrolla el estudio sobre el proceso con mayor rendimiento mediante el diseño experimental planteado.

Diagrama III-3: Proceso experimental de extracción de Betalaínas de la pulpa de remolacha



3.1.6. Diseño Experimental

El diseño experimental del presente estudio es realizado en el proceso de agitación y la relación de soluto-solvente para el proceso que presenta mayor rendimiento (ver tabla III-4).

El diseño experimental planteado es de 3^2 , donde 3 son los niveles y 2 factores. Se repite la experiencia tres veces para tener resultados significativos y validados.

3.1.6.1. Factores

De los parámetros a evaluar, los factores manipulables son:

a) Relación soluto-solvente

La relación entre soluto solvente, es una variable que permite conocer la cantidad de betalaínas extraídas a diferentes cantidades de solvente con el fin de utilizar la cantidad óptima

b) Tiempo de extracción

La variable tiempo relaciona la cantidad de betalaínas extraídas a diferentes intervalos de tiempo de tal manera que se optimice las horas de trabajo.

La velocidad del agitador es 300 RPM, con una temperatura de operación de 40°C.

3.1.6.2. Niveles

Para determinar los niveles de los factores se toma en cuenta referencias bibliográficas del proceso.

Tabla III-5: Niveles de los Factores

Nivel	Relación Sto-Sve (gr/ml)	Tiempo de Extracción (hora)
1	1:2	1
2	1:3	2
3	1:4	3

Fuente: Elaboración Propia

Tabla III-6: Codificación de las Variables

Nivel	Relación Sto-Sve (R)	Tiempo de Extracción (min) (T)
1	-1	-1
2	0	0
3	1	1

Fuente: Elaboración Propia

3.1.6.3.Variable Respuesta

La variable respuesta es la cantidad de colorante líquido y solvente extraídas por masa de pulpa, expresado en gr.

3.1.6.4.Número de Combinaciones

Al ser el diseño factorial:

$$3^k$$

El número de experiencias es: $3^2 = 9$

Considerando dos réplicas:

Número de experimentos: $3^2 * 3 = 27$ *experimentos*

La combinación de las variables o interacción se muestra en la siguiente tabla:

Tabla III-7: Diseño Factorial para el proceso de extracción

Rel sto/sve	Tiempo (hr)	Variable de respuesta VR
-1	-1	Y1
-1	0	Y2
-1	1	Y3
0	-1	Y4
0	0	Y5
0	1	Y6
1	-1	Y7
1	0	Y8
1	1	Y9
-1	-1	Y10
-1	0	Y11
-1	1	Y12
0	-1	Y13
0	0	Y14
0	1	Y15
1	-1	Y16
1	0	Y17
1	1	Y18
-1	-1	Y19
-1	0	Y20
-1	1	Y21
0	-1	Y22
0	0	Y23
0	1	Y24
1	-1	Y25
1	0	Y26
1	1	Y27

Fuente: Elaboración Propia

3.1.6.5.Descripción del proceso de Extracción

3.1.6.5.1. Agitación

Se utiliza 100 gramos de pulpa rallada y se mezcla con el volumen en ml de solvente a las diferentes relaciones de soluto:solvente de 1:2, 1:3 y 1:4 a diferentes tiempos de extracción de 1, 2 y 3 horas; aislando el proceso para evitar contaminación externa y conservar el solvente en caso de existir evaporación de vestigios de alcohol.

Figura III-19: Extracción de Betalaínas en el agitador magnético



Fuente: Elaboración propia

Figura III-20: Mezcla Betalaínas: Solvente después de la agitación



Fuente: Elaboración Propia

3.1.6.5.2. Filtración

Concluido el tiempo de agitación se procede a filtrar el producto; para ello se utiliza un embudo bushner y papel filtro de 110 mm, con la finalidad de separar la parte sólida de la líquida.

Figura III-21: Filtración del colorante luego de la agitación



Fuente: Elaboración Propia

3.1.6.5.3. Prensado

La parte sólida separada en la filtración se somete a una etapa de prensado obteniendo un líquido concentrado y de esta manera aumentar el rendimiento del volumen obtenido.

Figura III-22: Compresión de la parte sólida separada en la filtración



Fuente: Elaboración Propia

3.1.6.5.4. Evaporación

IDEM 3.1.4.9 pág. 54

3.1.6.5.5. Almacenamiento

El colorante obtenido se guarda en tubos de ensayo con tapón de goma en un lugar fresco y seco libre de la luz para su posterior análisis.

Figura III-23: Almacenamiento del colorante



Fuente: Elaboración Propia

3.1.6.5.6. Análisis cualitativo de betalaínas

Para efectuar el análisis cualitativo de las betalaínas en el producto obtenido se procede a realizar pruebas de reacción con hidróxido de potasio 0.5 N y amoníaco (ver acápite 2.3.4 pág.26).

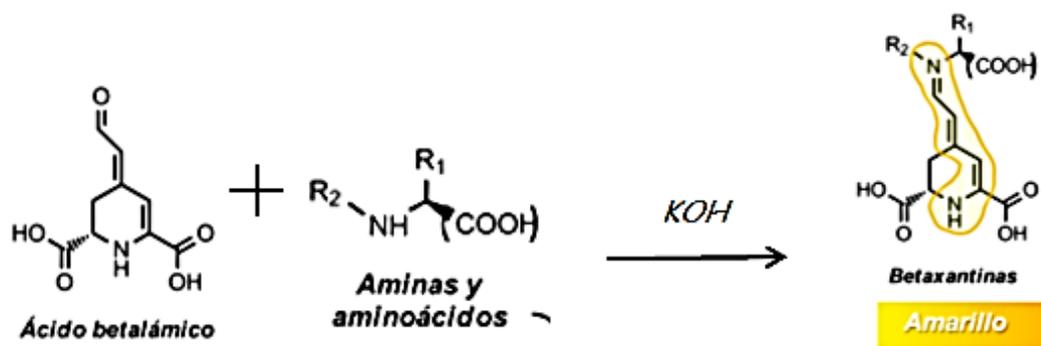
Figura III-24: Prueba cualitativa para presencia de Betalaínas con KOH



Fuente: Elaboración Propia

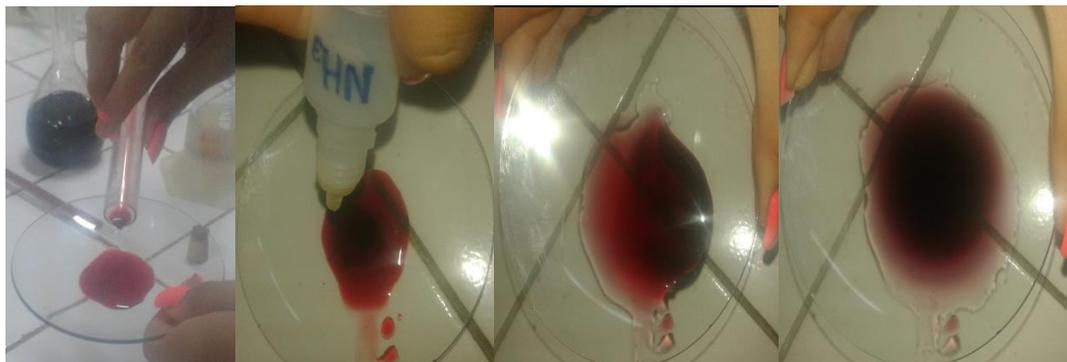
Se agrega 0.5 ml de hidróxido de potasio 0.5 N a 0.3 ml del colorante; se puede observar que el cambio de color es instantáneo, ya que se torna en un color amarillo y de esta manera se demuestra la existencia de betalaínas en el producto final.

Figura III-25: Reacción cualitativa con hidróxido de potasio 0.5 N



Fuente: Elaboración Propia

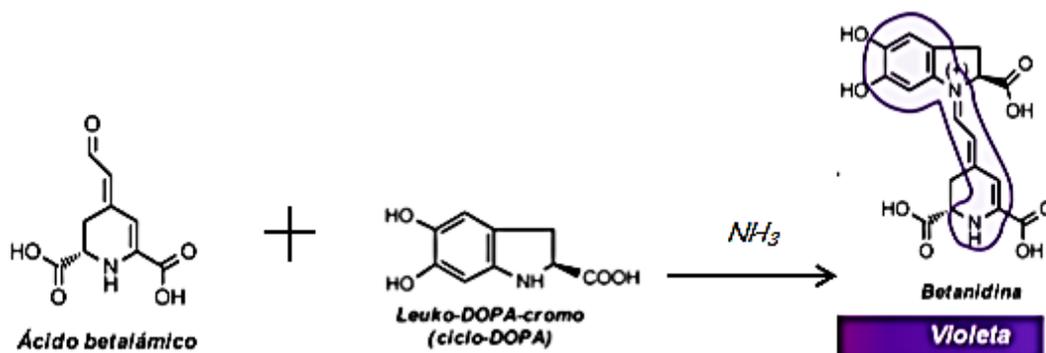
Figura III-26: Prueba cualitativa para presencia de Betaláinas con NH_3



Fuente: Elaboración Propia

Se agrega 0.5 ml de amoníaco a 0.3 ml del colorante; se puede observar que el cambio de color es instantáneo, ya que se torna en un color violeta y de esta manera se demuestra la existencia de betaláinas en el producto final.

Figura III-27: Reacción cualitativa con amoníaco

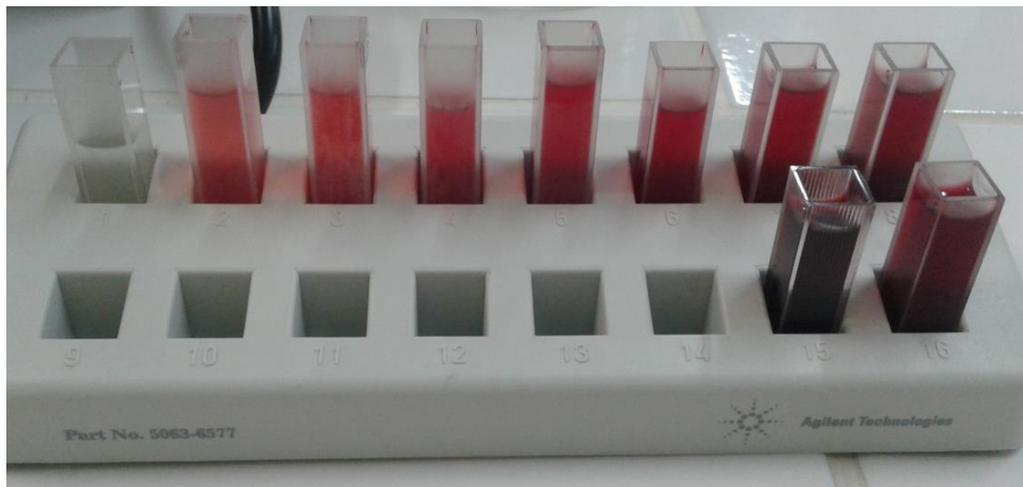


Fuente: Elaboración Propia

3.1.6.5.7. Análisis espectrofotométrico

Se determina la absorbancia a la longitud de onda de 536 nm en espectrómetro (especificación técnica, ver anexo 9). Con el fin de cuantificar la concentración del colorante se toman dos volúmenes del extracto de 4 y 10 μ litros y se diluye hasta enrasar a 1,5 ml; como blanco se utiliza una mezcla 1:1 de etanol:agua.

Figura III-28: Soluciones preparadas en cubas de cuarzo para análisis espectrofotométrico.



Fuente: Elaboración Propia

Tabla III-8: Registro de concentraciones de colorante en espectrofotometría

Muestra	Conc ppm	absorbancia
1	832	4.3101
2	878	4.5288
3	2043	10.000

Fuente: Espectrofotómetro Cary 60

3.2. Balance de Materia y Energía

Para el balance de materia se realiza la extracción a partir de 100 gramos de pulpa fresca de remolacha al 85.58% de humedad. El proceso de extracción se realiza en las condiciones más óptimas; a una relación de 1:3 soluto: solvente, 2 horas y 40 °C, se selecciona un tiempo de 2 horas ya que se extrae un volumen mayor de líquido en estas condiciones.

En los procesos donde la presión es reducida como en el rota-evaporador, las entalpías de vaporización del etanol a la presión del sistema fue obtenido de las tablas termodinámicas de vapor saturado (Smith Van Ness, Perry, 1995).

Tabla III-9: Datos de proceso de obtención de Betalaínas

Proceso de extracción	
Masa pulpa de remolacha	100 gr
Densidad remolacha	1.2 gr/ml
Relación soluto: solvente	1:3
Masa solvente	236.7 gr
Densidad etanol al 96% a 20 °C	0,789 gr/ml
Tiempo de extracción	2 hr
Proceso de evaporación	
Masa de Betalaína	0.0764 gr
Masa etanol recuperado	125.31 gr
Temperatura de baño	78 °C
Calor específico del etanol	2.513 kJ/kg K
Temperatura de etanol condensado	29 °C

Fuente: Elaboración Propia

3.2.1. Diagrama de Flujo del proceso de Extracción

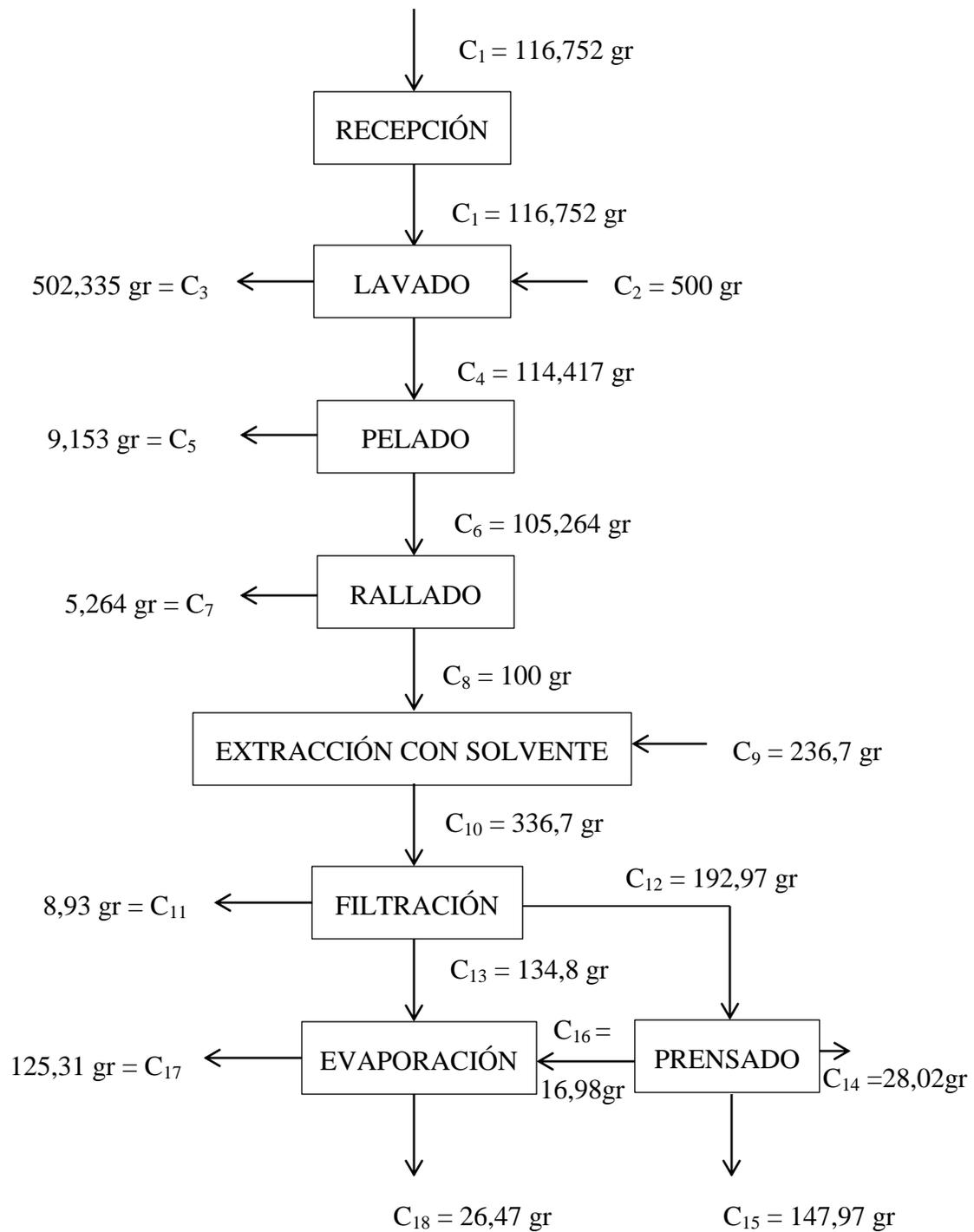
La siguiente tabla muestra las especificaciones de las corrientes del diagrama de flujo.

Tabla III-10: Corrientes de Proceso

Corriente	Especificación	Corriente	Especificación
C ₁	Remolacha	C ₁₃	Colorante+etanol
C ₂	Agua	C ₁₄	Pérdidas compresión
C ₃	Agua residual	C ₁₅	Residuos
C ₄	Remolacha lavada	C ₁₆	Colorante+etanol
C ₅	Cáscara	C ₁₇	OH evaporado
C ₆	Pulpa	C ₁₈	Colorante concentrado
C ₇	Pérdidas	A _{CX}	Agua en corriente "Cx"
C ₈	Pulpa rallada	B _{CX}	Etanol en corriente "Cx"
C ₉	Etanol al 96%	C _{CX}	Azucares totales en corriente "Cx"
C ₁₀	Remolacha+etanol	D _{CX}	Betalainas en corriente "Cx"
C ₁₁	Pérdidas filtración	E _{CX}	Fibras en corriente "Cx"
C ₁₂	Sólidos		

Fuente: Elaboración Propia

Diagrama III-4: Flujo del proceso de extracción de betalaínas de la remolacha



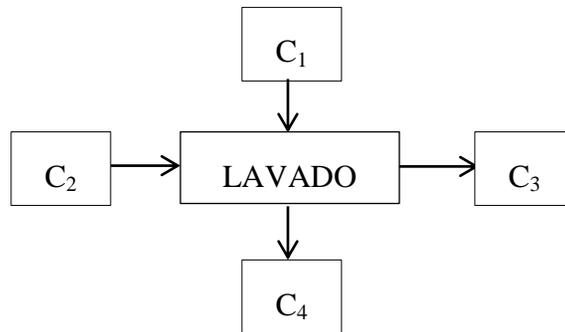
Fuente: Elaboración Propia

3.2.2. Balance de materia

➤ Balance en materia prima

Se utilizan 116,752 gr de materia prima para cuantificar rendimientos.

Luego de recepcionar la materia prima se procede al lavado y pelado de esta.



Donde:

C₁: Remolacha C₁ = 116,752 gr

C₂: Agua C₂ = 500 gr

C₃: Agua residual C₃ = 502,335 gr

C₄: Remolacha lavada

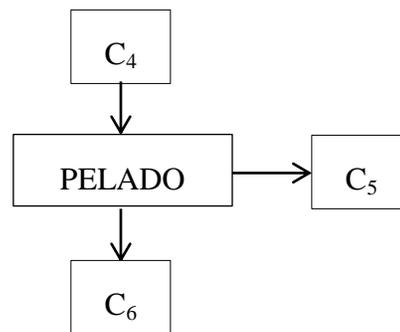
$$C_1 + C_2 = C_3 + C_4$$

$$C_4 = C_1 + C_2 - C_3 = 116,752 \text{ gr} + 500 \text{ gr} - 502,335 \text{ gr}$$

$$C_4 = 114,417 \text{ gr}$$

$$M_{\text{imourezas}} = C_3 - C_2 = 502,335 \text{ gr} - 500 \text{ gr} = 2,335 \text{ gr}$$

$$\%_{imp} = \frac{m_{imp}}{C_3} \times 100\% = \frac{2,335 \text{ gr}}{502,335 \text{ gr}} \times 100\% = 0,465\%$$



Donde:

C₄: Remolacha lavada

C₄ = 114,417 gr

C₅: Cáscara

C₅ = 9,153 gr

C₆: Pulpa

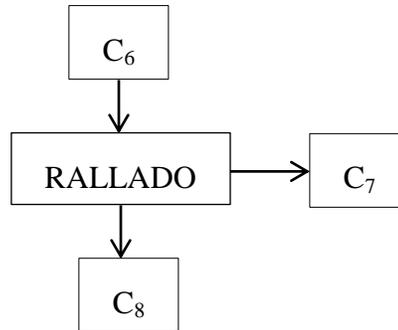
$$C_4 = C_5 + C_6$$

$$C_6 = C_4 - C_5$$

$$C_6 = 114,417 \text{ gr} - 9,153 \text{ gr}$$

$$C_6 = 105,264 \text{ gr}$$

La pulpa de remolacha pasa a ser rallada.



Donde:

C_6 : Pulpa $C_6 = 105,264 \text{ gr}$

C_7 : Pérdidas $C_7 = 5,264 \text{ gr}$

C_8 : Pulpa rallada

$$C_6 = C_7 + C_8$$

$$C_8^* = C_6 - C_7$$

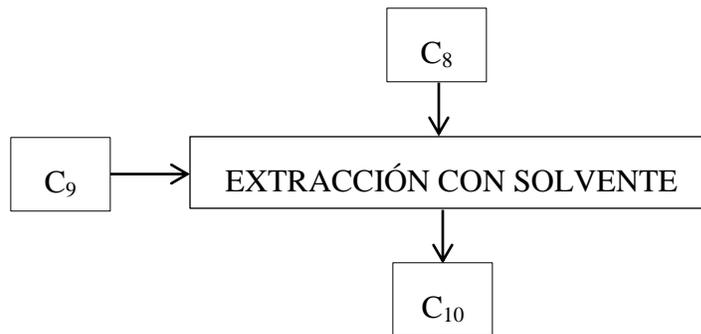
$$C_8 = 105,264 \text{ gr} - 5,264 \text{ gr}$$

$$C_8 = 100 \text{ gr}$$

$$\%_{rend \text{ de rallado}} = \frac{C_8}{C_1} \times 100 = \frac{100 \text{ gr}}{116,752 \text{ gr}} \times 100\% = 85.652\%$$

➤ **Balance en proceso**

Se toma como base de cálculo 100 gr de pulpa de remolacha rallada que entran al agitador.



Donde:

C_8 : Pulpa rallada

C_9 : Etanol al 96%

C_{10} : Remolacha + OH

A_{C_x} : masa de agua

B_{C_x} : masa de etanol

C_{C_x} : masa de azúcares totales

D_{C_x} : masa de betalaínas

E_{C_x} : masa de fibras

$$C_8 = 100 \text{ gr}$$

$$C_9 = 236.7 \text{ gr}$$

$$C_{10} = C_8 + C_9 = 100 \text{ gr} + 236.7 \text{ gr}$$

$$C_{10} = 336,7 \text{ gr}$$

La cantidad de agua y azúcares totales es determinada por dato de análisis en CEANID (ver anexo 1)

$$A_{C_8} = 85,58 \text{ gr} = 85,58\% \text{ de agua en } C_8$$

$$C_{C_8} = 4,17 \text{ gr} = 4,17\% \text{ de azúcares totales en } C_8$$

La cantidad de betalaínas es tomada de dato bibliográfico (ver tabla II-4; ver anexo 8)

$$m_{bet \text{ en remolacha}} = 1309 \frac{mg}{L} \div 1,2 \frac{kg}{L} = 1090,83 \frac{mg}{Kg} = 1090,83 \text{ ppm}$$

$$m_{bet \text{ en remolacha}} = \frac{1090,83 \text{ mg} \times 100gr}{1000gr} = 109,083mg = 0,1091gr$$

$$D_{C8} = 0,1091 \text{ gr} = 0,1091\% \text{ de Betalaínas en } C_8$$

$$E_{C8} = C_8 - A_{C8} - C_{C8} - D_{C8} = 100 \text{ gr} - 85,58 \text{ gr} - 4,17 \text{ gr} - 0,1091 \text{ gr}$$

$$E_{C8} = 10,1409 \text{ gr} = 10,1409\% \text{ de fibras en } C_8$$

Se utiliza etanol al 96% entonces:

$$A_{C9} = 0,04 \times C_9 = 0,04 \times 236,7 \text{ gr}$$

$$A_{C9} = 9,468 \text{ gr} = 4\% \text{ de agua en } C_9$$

$$B_{C9} = 0,96 \times C_9 = 0,96 \times 236,7 \text{ gr}$$

$$B_{C9} = 227,232 \text{ gr} = 96\% \text{ de etanol en } C_9$$

Para cálculo en corriente C_{10} :

$$A_{C10} = A_{C8} + A_{C9} = 85,58 \text{ gr} + 9,468 \text{ gr} = 95,048 \text{ gr} = 28,23\% \text{ de agua en } C_{10}$$

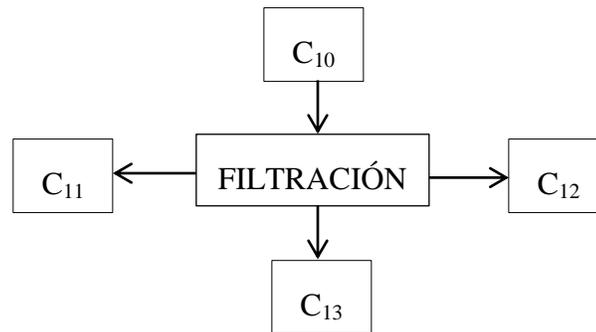
$$B_{C10} = B_{C9} = 227,232 \text{ gr} = 67,49\% \text{ de etanol en } C_{10}$$

$$C_{C10} = C_{C8} = 4,17 \text{ gr} = 1,24\% \text{ de azúcares totales en } C_{10}$$

$$D_{C10} = D_{C8} = 0,1091 \text{ gr} = 0,032\% \text{ de Betalaínas en } C_{10}$$

$$E_{C10} = E_{C8} = 10,1409 \text{ gr} = 3,01\% \text{ de fibras en } C_{10}$$

Pasado el proceso de agitación se realiza la filtración



Donde:

C_{10} : Remolacha + OH	A_{Cx} : masa de agua
C_{11} : Pérdidas en filtración	B_{Cx} : masa de etanol
C_{12} : Sólidos	C_{Cx} : masa de azúcares totales
C_{13} : Colorante + OH	D_{Cx} : masa de betalaínas
	E_{Cx} : masa de fibras

$$C_{10} = 336.7 \text{ gr}$$

$$C_{11} = 8.39 \text{ gr}$$

$$C_{12} = 192.97 \text{ gr}$$

$$C_{10} = C_{11} + C_{12} + C_{13}$$

$$C_{13} = C_{10} - C_{11} - C_{12}$$

$$C_{13} = 336.7 \text{ gr} - 8.39 \text{ gr} - 192.97 \text{ gr}$$

$$C_{13} = 134,8 \text{ gr}$$

$$A_{C_{10}} = 95,048 \text{ gr} = 28,23\% \text{ de agua en } C_{10}$$

$$B_{C_{10}} = 227,232 \text{ gr} = 67,49\% \text{ de etanol en } C_{10}$$

$$C_{C_{10}} = 4,17 \text{ gr} = 1,24\% \text{ de azúcares totales en } C_{10}$$

$$D_{C_{10}} = 0,1091 \text{ gr} = 0,032\% \text{ de Betalaínas en } C_{10}$$

$$E_{C_{10}} = 10,1409 \text{ gr} = 3,01\% \text{ de fibras en } C_{10}$$

Para C_{11} se toman los mismos porcentajes que en corriente C_{10}

$$A_{C11} = C_{11} \times 28,23\% = 0,2823 \times 8,39 \text{ gr} = 2,52 \text{ gr} = 28,23\% \text{ de agua en } C_{11}$$

$$B_{C11} = C_{11} \times 67,49\% = 0,6749 \times 8,39 \text{ gr} = 6,03 \text{ gr} = 67,49\% \text{ de etanol en } C_{11}$$

$$C_{C11} = C_{11} \times 1,24\% = 0,0124 \times 8,39 \text{ gr} = 0,11 \text{ gr} = 1,24\% \text{ de azúcares totales en } C_{11}$$

$$D_{C11} = C_{11} \times 0,032\% = 0,00032 \times 8,39 \text{ gr} = 2,86 \times 10^{-3} \text{ gr} = 0,032\% \text{ de Betalaínas en } C_{11}$$

$$E_{C11} = C_{11} \times 3,01\% = 0,0301 \times 8,39 \text{ gr} = 0,27 \text{ gr} = 3,01\% \text{ de fibras en } C_{11}$$

Para cálculos en C_{13} se toman los mismos porcentajes que en C_{10} de las corrientes C_{C10} y D_{C10} . El % de alcohol se mide con alcoholímetro de vinos, dando un valor de 75%, entonces el cálculo queda de la siguiente manera:

$$A_{C13} = C_{13} - B_{C13} - C_{C13} - D_{C13}$$

$$A_{C13} = 134,8 \text{ gr} - 101,1 \text{ gr} - 1,67 \text{ gr} - 0,04 \text{ gr} = 31,98 \text{ gr} = 23,728\% \text{ de agua en } C_{13}$$

$$B_{C13} = C_{13} \times 75\% = 0,75 \times 134,8 \text{ gr} = 101,1 \text{ gr} = 75\% \text{ de etanol en } C_{13}$$

$$C_{C13} = C_{13} \times 1,24\% = 0,0124 \times 134,8 \text{ gr} = 1,67 \text{ gr} = 1,24\% \text{ de azúcares totales en } C_{13}$$

$$D_{C13} = C_{13} \times 0,032\% = 0,00032 \times 134,8 \text{ gr} = 0,04 \text{ gr} = 0,032\% \text{ de Betalaínas en } C_{13}$$

Para cálculos en C_{12} :

$$A_{C12} = A_{C10} - A_{C11} - A_{C13} = 95,048 \text{ gr} - 2,52 \text{ gr} - 31,98 \text{ gr}$$

$$A_{C12} = 60,55 \text{ gr} = 31,38\% \text{ de agua en } C_{12}$$

$$B_{C12} = B_{C10} - B_{C11} - B_{C13} = 227,232 \text{ gr} - 6,03 \text{ gr} - 101,1 \text{ gr}$$

$$B_{C12} = 120,1 \text{ gr} = 62,24\% \text{ de etanol en } C_{12}$$

$$C_{C12} = C_{C10} - C_{C11} - C_{C13} = 4,17 \text{ gr} - 0,11 \text{ gr} - 1,67 \text{ gr}$$

$$C_{C12} = 2,39 \text{ gr} = 1,24\% \text{ de azúcares totales en } C_{12}$$

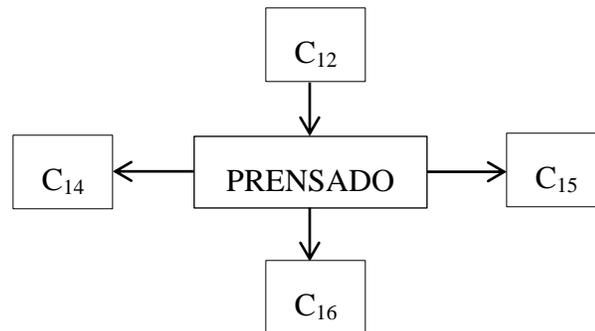
$$D_{C12} = D_{C10} - D_{C11} - D_{C13} = 0,1091 \text{ gr} - 2,86 \times 10^{-3} \text{ gr} - 0,04 \text{ gr}$$

$$D_{C12} = 0,066 \text{ gr} = 0,033\% \text{ de Betalaínas en } C_{12}$$

$$E_{C12} = E_{C10} - E_{C11} = 10,1409 \text{ gr} - 0,27 \text{ gr}$$

$$E_{C12} = 9,864 \text{ gr} = 5,107\% \text{ de fibras en } C_{12}$$

La parte sólida extraída en la filtración es sometida a un proceso de prensado.



Donde:

C_{12} : Sólidos

C_{14} : Pérdidas en compresión

C_{15} : Residuos

C_{16} : Colorante + OH

A_{Cx} : masa de agua

B_{Cx} : masa de etanol

C_{Cx} : masa de azúcares totales

D_{Cx} : masa de betalaínas

E_{Cx} : masa de fibras

$$C_{12} = 192.97 \text{ gr}$$

$$C_{14} = 28.02 \text{ gr}$$

$$C_{15} = 147.97 \text{ gr}$$

$$C_{12} = C_{14} + C_{15} + C_{16}$$

$$C_{16} = C_{12} - C_{14} + C_{15}$$

$$C_{16} = 192.97 \text{ gr} - 28.02 \text{ gr} + 147.97 \text{ gr}$$

$$C_{16} = 16,98 \text{ gr}$$

$$A_{C_{12}} = 60,55 \text{ gr} = 31,38\% \text{ de agua en } C_{12}$$

$$B_{C_{12}} = 120,1 \text{ gr} = 62,24\% \text{ de etanol en } C_{12}$$

$$C_{C_{12}} = 2,39 \text{ gr} = 1,24\% \text{ de azúcares totales en } C_{12}$$

$$D_{C_{12}} = 0,066 \text{ gr} = 0,033\% \text{ de Betalaínas en } C_{12}$$

$$E_{C_{12}} = 9,864 \text{ gr} = 5,107\% \text{ de fibras en } C_{12}$$

Para C_{14} se toman los mismos porcentajes que en corriente C_{12}

$$A_{C_{14}} = C_{14} \times 31,38\% = 0,3138 \times 28,02 \text{ gr} = 8,79 \text{ gr} = 31,38\% \text{ de agua en } C_{14}$$

$$B_{C_{14}} = C_{14} \times 62,24\% = 0,6224 \times 28,02 \text{ gr} = 17,44 \text{ gr} = 62,24\% \text{ de etanol en } C_{14}$$

$$C_{C_{14}} = C_{14} \times 1,24\% = 0,0124 \times 28,02 \text{ gr} = 0,35 \text{ gr} = 1,24\% \text{ de azúcares totales en } C_{14}$$

$$D_{C_{14}} = C_{14} \times 0,033\% = 0,00033 \times 28,02 \text{ gr} = 9,25 \times 10^{-3} \text{ gr} = 0,033\% \text{ de Betalaínas en } C_{14}$$

$$E_{C_{14}} = C_{14} \times 5,107\% = 0,05107 \times 28,02 \text{ gr} = 1,43 \text{ gr} = 5,107\% \text{ de fibras en } C_{14}$$

Para cálculos en C_{16} se toman los mismos porcentajes que en C_{12} de las corrientes $C_{C_{12}}$ y $D_{C_{12}}$. El % de alcohol se mide con alcoholímetro de vinos, dando un valor de 75%, entonces el cálculo queda de la siguiente manera:

$$A_{C_{16}} = C_{16} - B_{C_{16}} - C_{C_{16}} - D_{C_{16}}$$

$$A_{C_{16}} = 16,98 \text{ gr} - 12,735 \text{ gr} - 0,21 \text{ gr} - 5,6 \times 10^{-3} \text{ gr}$$

$$A_{C_{16}} = 4,03 \text{ gr} = 23,727\% \text{ de agua en } C_{16}$$

$$B_{C_{16}} = C_{16} \times 75\% = 0,75 \times 16,98 \text{ gr}$$

$$B_{C_{16}} = 12,735 \text{ gr} = 75\% \text{ de etanol en } C_{16}$$

$$C_{C_{16}} = C_{16} \times 1,24\% = 0,0124 \times 16,98 \text{ gr}$$

$$C_{C_{16}} = 0,21 \text{ gr} = 1,24\% \text{ de azúcares totales en } C_{16}$$

$$D_{C_{16}} = C_{16} \times 0,033\% = 0,0033 \times 16,98 \text{ gr}$$

$$D_{C_{16}} = 5,6 \times 10^{-3} \text{ gr} = 0,033\% \text{ de Betalaínas en } C_{16}$$

Para cálculos en C_{15} :

$$A_{C_{15}} = A_{C_{12}} - A_{C_{14}} - A_{C_{16}} = 60,55 \text{ gr} - 8,79 \text{ gr} - 4,03 \text{ gr}$$

$$A_{C_{15}} = 47,73 \text{ gr} = 32,26\% \text{ de agua en } C_{15}$$

$$B_{C_{15}} = B_{C_{12}} - B_{C_{14}} - B_{C_{16}} = 120,1 \text{ gr} - 17,44 \text{ gr} - 12,735 \text{ gr}$$

$$B_{C_{15}} = 89,925 \text{ gr} = 60,77\% \text{ de etanol en } C_{15}$$

$$C_{C_{15}} = C_{C_{12}} - C_{C_{14}} - C_{C_{16}} = 2,39 \text{ gr} - 0,35 \text{ gr} - 0,21 \text{ gr}$$

$$C_{C_{15}} = 1,83 \text{ gr} = 1,24\% \text{ de azúcares totales en } C_{15}$$

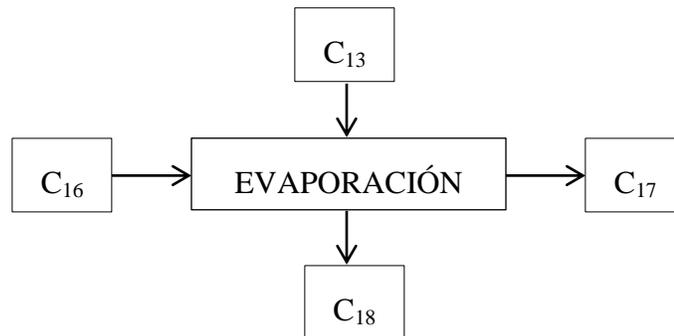
$$D_{C_{15}} = D_{C_{12}} - D_{C_{14}} - D_{C_{16}} = 0,066 \text{ gr} - 9,25 \times 10^{-3} \text{ gr} - 5,6 \times 10^{-3} \text{ gr}$$

$$D_{C_{15}} = 0,05 \text{ gr} = 0,033\% \text{ de Betalaínas en } C_{15}$$

$$E_{C_{15}} = E_{C_{12}} - E_{C_{14}} = 9,864 \text{ gr} - 1,43 \text{ gr}$$

$$E_{C_{15}} = 8,434 \text{ gr} = 5,7\% \text{ de fibras en } C_{15}$$

Todo el líquido obtenido del proceso de extracción es sometido a evaporación para concentrar el colorante.



Donde:

C_{13} : Colorante + OH

C_{16} : Colorante + OH

C_{17} : OH evaporado

C_{18} : Colorante concentrado

A_{Cx} : masa de agua

B_{Cx} : masa de etanol

C_{Cx} : masa de azúcares totales

D_{Cx} : masa de betalaínas

$$C_{13} = 134.8 \text{ gr}$$

$$C_{16} = 16.98 \text{ gr}$$

$$C_{17} = 125.31 \text{ gr}$$

$$C_{13} + C_{16} = C_{17} + C_{18}$$

$$C_{18} = C_{13} + C_{16} - C_{17}$$

$$C_{18} = 134.8 \text{ gr} + 16.98 \text{ gr} - 125.31 \text{ gr}$$

$$C_{18} = 26,47 \text{ gr}$$

$$A_{C13} = 31,98 \text{ gr} = 23,728\%$$

$$B_{C13} = 101,1 \text{ gr} = 75\%$$

$$C_{C13} = 1,67 \text{ gr} = 1,24\%$$

$$D_{C13} = 0,04 \text{ gr} = 0,032\%$$

$$A_{C16} = 4,03 \text{ gr} = 23,727\%$$

$$B_{C16} = 12,735 \text{ gr} = 75\%$$

$$C_{C16} = 0,21 \text{ gr} = 1,24\%$$

$$D_{C16} = 5,6 \times 10^{-3} \text{ gr} = 0,033\%$$

Con análisis elaborados por el CEANID se toman como datos para el cálculo en C₁₈ el % de sólidos totales y de azúcares totales en el colorante (ver anexo 1).

Sólidos totales = 7.49%

Azúcares totales = 7.19%

$$\%_{BET} = 7.49 \% - 7.19 \% = 0.3 \%$$

El porcentaje de alcohol en C₁₈ se mide con alcoholímetro de vinos, dando un valor de 50%.

Entonces el cálculo en C₁₈ queda de la siguiente manera:

$$A_{C18} = C_{18} - B_{C18} - C_{C18} - D_{C18} = 26,47 \text{ gr} - 13,235 \text{ gr} - 1,903 \text{ gr} - 0,0794 \text{ gr}$$

$$A_{C18} = 11,25 \text{ gr} = 42,51\% \text{ de agua en } C_{18}$$

$$B_{C18} = C_{18} \times 50\% = 0,5 \times 26,47 \text{ gr} = 13,235 \text{ gr} = 50\% \text{ de etanol en } C_{18}$$

$$C_{C18} = C_{18} \times 7,19\% = 0,0719 \times 26,47 \text{ gr} = 1,903 \text{ gr} = 7,19\% \text{ de azúcares totales en } C_{18}$$

$$D_{C18} = C_{18} \times 0,3\% = 0,003 \times 26,47 \text{ gr} = 0,0794 \text{ gr} = 0,30\% \text{ de Betalainas en } C_{18}$$

Para cálculos en C₁₇:

$$A_{C17} = A_{C13} + A_{C16} - A_{C18} = 31,98 \text{ gr} + 4,03 \text{ gr} - 11,25 \text{ gr}$$

$$A_{C17} = 24,76 \text{ gr} = 20\% \text{ de agua en } C_{17}$$

$$B_{C17} = C_{17} - A_{C17} = 125,31 \text{ gr} - 24,76 \text{ gr}$$

$$B_{C17} = 100,55 \text{ gr} = 80\% \text{ de etanol en } C_{17}$$

$$m_{bet \text{ en colorante}} = 0,0794 \text{ gr} = 79,4 \text{ mg}$$

$$ppm_{bet \text{ en colorante}} = \frac{79,4 \text{ mg}}{100 \text{ gr}} \times 1000 = 794 \text{ ppm}$$

$$\%_{rend \text{ del proceso}} = \frac{ppm_{bet \text{ en colorante}}}{ppm_{bet \text{ en}}} = \frac{794 \text{ ppm}}{1090,83 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$\%_{rend \text{ del proceso}} = 72,79\%$$

3.2.3. Balance de Energía

En este acápite se realiza el balance de energía en los procesos de extracción con solvente y evaporación.

- **Balance en el rota-evaporador**
 - **Balance en el sistema de evaporación-condensación:**

La bomba de vacío reduce la presión del sistema en 74 kPa, por lo que la presión del sistema es de:

$$P_{atm\ tarija} = 101,3\ KPa$$

$$P_{sist} = P_{atm} - P_{red}$$

$$P_{sist} = 101,3\ Kpa - 74\ Kpa$$

$$P_{sist} = 27\ Kpa$$

A esta presión el punto de ebullición del etanol es:

$$T_{b_{OH}} = 48^{\circ}C$$

Se tienen los siguientes datos para el balance:

$$m_{agua\ ba\~{n}o} = 3,5\ Kg$$

$$m_{OH} = 0,1138\ Kg$$

$$m_{mezcla} = 0,038\ Kg$$

$$Cp_{OH} = 2,513\ Kj/Kg^{\circ}K$$

$$Cp_{agua} = 4,187\ Kj/Kg^{\circ}K$$

$$\lambda_{OH} = 841\ Kj/Kg$$

$$T_{ba\~{n}o} = 78^{\circ}C$$

$$T_{sist} = 48^{\circ}C$$

$$T_{inicial} = 20^{\circ}C$$

$$Q_{entregado} = Q_{absorbido}$$

$$Q_{entregado} = m_{agua\ baño} \times Cp_{agua} \times \Delta T$$

$$Q_{entregado} = 3,5\ Kg \times 4,187\ \frac{Kj}{Kg^{\circ}K} \times (78^{\circ}C - 20^{\circ}C) = 849,961\ Kj$$

$$Q_{absorbido} = m_{OH} \times Cp_{OH} \times \Delta T + m_{mezcla} \times Cp_{mezcla} \times \Delta T$$

Despejando Cp de la mezcla:

$$Cp_{mezcla} = \frac{Q_{abs} - m_{OH} \times Cp_{OH} \times \Delta T}{m_{mezcla} \times \Delta T}$$

$$Cp_{mezcla} = \frac{849,961\ Kj - 0,1138\ Kg \times 2,513\ \frac{Kj}{Kg^{\circ}K} \times (48 - 20)}{0,038\ Kg \times (78 - 20)}$$

$$Cp_{mezcla} = 382,293\ \frac{Kj}{Kg^{\circ}K}$$

$$Q_1 = 849,961\ Kj \times \frac{1\ KW}{3600\ Kj} = 0,2361\ KW$$

La potencia del calentador de baño es de 1320 W por lo tanto, el tiempo mínimo requerido es:

$$Q_1 = P \times tiempo(t)$$

$$tiempo(t) = \frac{Q_1}{P}$$

$$tiempo(t) = \frac{849,961\ Kj}{1,320\ \frac{Kj}{s}}$$

$$tiempo(t) = 643,91\ seg$$

- **Balance en el condensador**

Cálculo de la cantidad de agua necesaria para condensar el alcohol etílico:

$$Q_2 = Q_3$$

$$Q_{entregado} = Q_{absorbido}$$

$$m_{OH}\lambda_{OH} + m_{OH}Cp_{OH}\Delta T = m_{agua\ de\ cond}Cp_{agua}\Delta T$$

Despejando la masa de agua de condensación:

$$m_{agua\ de\ cond} = \frac{m_{OH}\lambda_{OH} + m_{OH}Cp_{OH}\Delta T}{Cp_{agua}\Delta T}$$

$$m_{agua\ de\ cond} = \frac{0,1138 \times 841 + 0,1138 \times 2,513(20 - 48)}{4,187(20,5 - 20)}$$

$$m_{agua\ de\ cond} = 41,89\ Kg$$

$$Q_2 = 87,698\ Kj \times \frac{1\ KW}{3600\ Kj} = 0.024\ kw = Q_3$$

- **Balance en el agitador magnético**

La capacidad máxima de trabajo es de 80W a 1500 rot/min, la velocidad a la que se trabaja para el agitado es de 300rot/min. Para obtener los watt a los que trabaja el agitador se hace una relación entre las velocidades y energía utilizada.

$$Q_4 = \frac{80\ W \times 300\ rpm}{1500\ rpm} = 16\ W = 0.016\ Kw$$

4. Capítulo IV

Análisis y Resultados

4.1. Análisis de la materia prima y producto final

Los análisis físico-químicos se realizan en los laboratorios del Centro de Análisis, Investigación y Desarrollo (CEANID) dependiente de la Universidad Autónoma Juan Misael Saracho.

A continuación se detalla los tipos de análisis realizados:

Determinación porcentual azúcares totales.

Determinación porcentual azúcares reductores.

Determinación porcentual humedad.

Determinación de pH.

Determinación sólidos solubles.

Los parámetros mencionados son seleccionados de acuerdo a referencias bibliográficas basados en proyectos de investigación consultados, los cuales son los que sirven para caracterizar la materia prima. Cabe resaltar el hecho de que no existe una norma vigente para colorantes, de esta manera se basa la selección evaluando proyectos similares.

4.1.1. Resultados de los análisis de la materia prima

Se encuentran en la tabla IV-1:

Tabla IV-1: Análisis de materia prima

Parámetro	Unidad	Resultado
Azúcares Totales	%	4,17
Azúcares Reductores	%	0,59
Humedad	%	85,58
pH(20°C)		5,92
Sólidos Solubles	°Brix	8,1
Betalainas*	Ppm (mg/Kg)	1090,83

Fuente: Centro de Análisis, Investigación y Desarrollo. CEANID (Anexo I)

*Cantidad de betalainas en dato bibliográfico (ver tabla II-4; ver anexo 8).

4.2. Resultados de los análisis del producto final

Tabla IV-2 Análisis de producto final

Parámetro	Unidad	Resultado
Azúcares Totales	%	7,19
Azúcares Reductores	%	0,34
Color		Rojo Púrpura
pH(20°C)		6,56
Sólidos Solubles	°Brix	21,2
Sólidos Totales	%	7.49
Betalainas*	Ppm (mg/Kg)	794

Fuente: Centro de Análisis, Investigación y Desarrollo. CEANID (Anexo I)

*Cantidad de betalainas determinada experimentalmente por el método de compresión.

4.2.1. Análisis estadístico de los datos para la curva patrón

Para los análisis espectrofotométricos se aplica el método de Beer utilizando espectrofotómetro Cary 60.

Tabla IV-3: Condiciones del Espectrofotómetro

Instrumento	Cary 60
N° Versión Instrumento	2,00
Long. de onda (nm)	536,0
Modo ordenadas	Abs
T Prom (seg)	0,1000
Replicados	1
Media patrón/muestra	Apag.
Correcciones peso y vol	Apag.
Tipo ajuste	Lineal
Min R²	0.95000
Unidades concentración	Mg/L

Fuente: Elaboración Propia

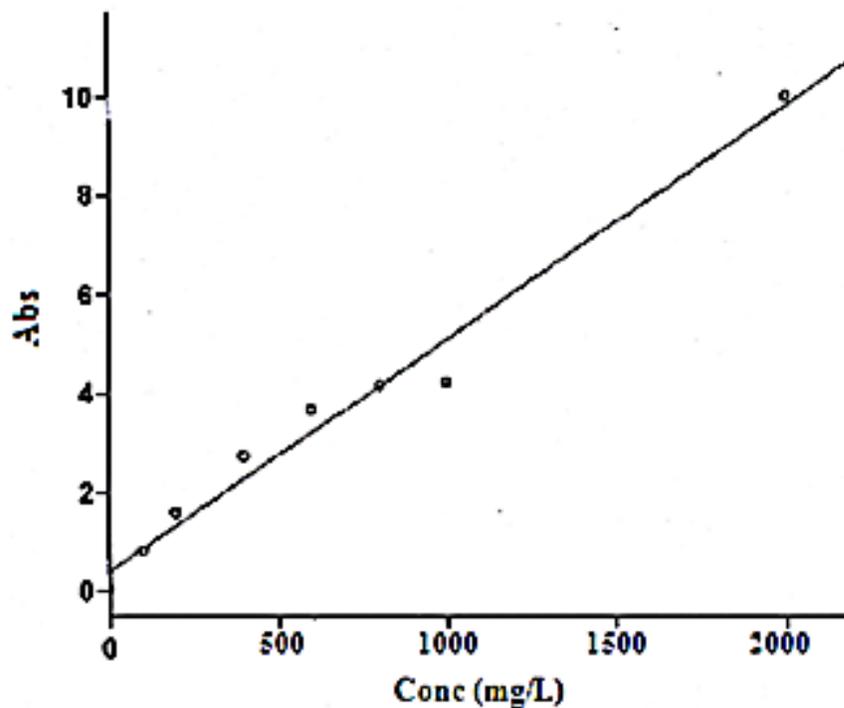
En la tabla IV-4 se tienen las lecturas de las absorbancias; mediante el programa estadístico SPSS se realiza la regresión lineal representada en la tabla IV-3.

Tabla IV-4: Registro de absorbancias de las soluciones hijas

Concentración ppm	Absorbancias a 473,7 nm	
	Lectura 1	Lectura 2
0	0.0318	0.0326
10	0.8181	0.8252
20	1.5589	1.5618
40	2.7319	2.7259
60	3.6561	3.4667
80	4.1552	3.8054
100	4.2231	4.3607

Fuente: Elaboración Propia

Para realizar la ecuación de la recta se trazan los siguientes parámetros en el análisis espectrofotométrico:

Figura IV-1: Variación de la concentración de Betaláinas vs Absorbancia

Fuente: Espectrofotómetro Cary 60

Mediante regresión lineal se tiene la ecuación de la recta; según el siguiente análisis de coeficientes con un coeficiente de relación de 0,97917 se tiene la siguiente ecuación para la concentración del colorante:

$$Abs = 0,004699 \times Conc + 0,40128$$

Tabla IV-5: Concentración del colorante

Muestra	Conc mg/L	absorbancia
1	832	4.3101
2	878	4.5288
media	855	4.41945

Fuente: Elaboración Propia

Se considera 855 mg/L (712,5 mg/Kg) como la concentración de betalainas en el colorante concentrado.

4.2.2. Determinación de Betalainas

La siguiente tabla muestra la cantidad de colorante líquido en porcentaje basado en la cantidad de colorante y solvente para los diferentes niveles de las variables.

Tabla IV-6: Rendimiento del proceso de extracción

factores		Exp
Relación	tiempo (hr)	Y%
1:2et	1	44
1:3et	1	52
1:4et	1	43,6
1:2et	2	53,41
1:3et	2	55,55
1:4et	2	48,05
1:2et	3	47,96
1:3et	3	49,05
1:4et	3	39,5
1:2et	1	44,2
1:3et	1	51
1:4et	1	43
1:2et	2	53,7
1:3et	2	55,15
1:4et	2	47,69
1:2et	3	47,72
1:3et	3	49
1:4et	3	39,62
1:2et	1	43,8
1:3et	1	52
1:4et	1	43,8
1:2et	2	53,22
1:3et	2	55,59
1:4et	2	47,96
1:2et	3	47,77
1:3et	3	49
1:4et	3	39,24

Fuente: Elaboración Propia

El rendimiento calculado está en base a la cantidad de producto líquido obtenido, tomando en cuenta cantidades de sólidos totales y % de humedad (agua) contenidas en cada prueba. La franja de color azul muestra las condiciones a las que se obtiene un bajo rendimiento, en promedio, de un 39,24%.

La franja de color naranja muestra las condiciones a las que se obtiene un alto rendimiento del 55,59%.

La siguiente tabla muestra la variabilidad de los datos respecto al modelo. Un R^2 aproximado a 1 indica que la variación de “y” es explicada por los términos presentes en el modelo.

Tabla IV-7: ANOVA^b

Modelo	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig
Regresión	614,328	5	122,866	183,942	0,000
Residual	14,027	21	0,668		
Total	628,355	26			

Fuente: SPSS 18.0

Tabla IV-8: COEFICIENTES^a

Modelo	Coefficientes no estandarizados		Sig
	B	Error tipo	
1 (Constante)	56,274	0,352	0,000
Relación	-0,474	0,193	0,023
Tiempo	-2,407	0,193	0,000
Rel*Tiempo	-1,958	0,236	0,000
Tiempo ²	-6,024	0,334	0,000
Relación ²	-6,354	0,334	0,000

Fuente: SPSS 18.0

El modelo matemático para la extracción de betalaínas es:

$$Y = 56,274 - 0,474X_1 - 2,407X_2 - 1,958X_1X_2 - 6,354X_1^2 - 6,024X_2^2$$

Esta ecuación relaciona todas las variables introducidas con el rendimiento.

Donde:

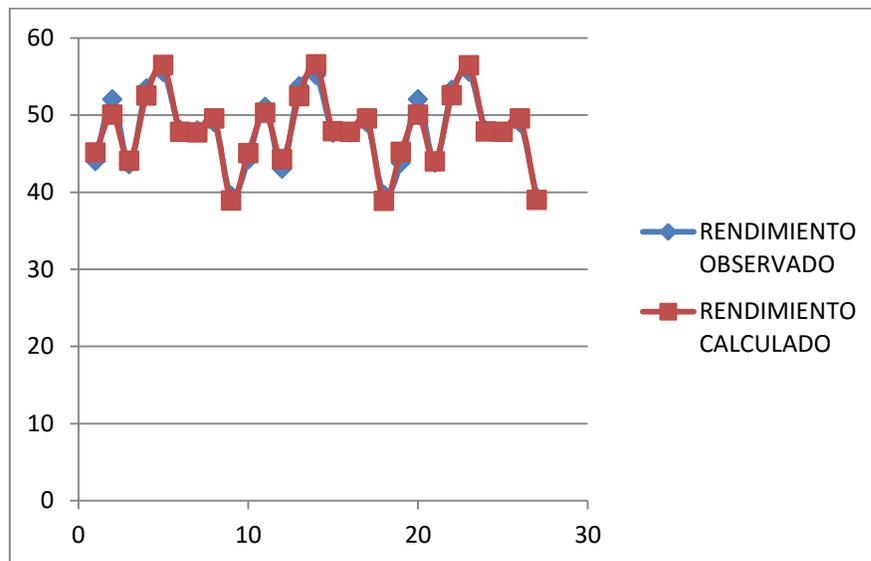
Y; ml de betalaína/gr de remolacha

X1; Relación sto/sve, g/ml

X2; Tiempo, horas

Para observar la influencia de una variable o factor sobre otro, se presenta el siguiente análisis.

Figura IV-2: Rendimiento Observado y Rendimiento Calculado



Fuente: Elaboración Propia

Como se puede observar, la ecuación para el rendimiento calculado se ajusta perfectamente a la gráfica para el rendimiento calculado, lo cual demuestra que la ecuación es válida para un grado de exactitud del 95% demostrando los niveles de significancia menores a 0,025 en todos los casos y de igual manera la importancia de ambas variables en el proceso.

4.2.3. Cálculos y resultados del balance de materia y energía

A continuación se presenta un resumen de balance de materia y energía.

Tabla IV-9: Resultados del balance de materia

Corriente	Especificación	Masa (gr)	Corriente	Especificación	Masa (gr)
C1	Remolacha	116,7520	C10	Remolacha+OH	336,7000
C2	Agua	500,0000	C11	Pérdidas filtración	8,3900
C3	Agua residual	502,3350	C12	Sólidos	192,9700
C4	Remolacha lavada	114,4170	C13	Colorante+OH	134,8000
C5	Cáscara	9,1530	C14	Pérdidas compresión	28,0200
C6	Pulpa	105,2640	C15	Residuos	147,9700
C7	Pérdidas	5,2640	C16	Colorante+OH	16,9800
C8	Pulpa rallada	100,0000	C17	OH evaporado	125,3100
C9	Etanol al 96%	236,7000	C18	Colorante concentrado	26,4700

Corriente	Especificación	Masa (gr)	Fracción (%)	Corriente	Especificación	Masa (gr)	Fracción (%)
Ac8	agua en corriente C8	85,5800	85,5800	Dc10	betalaínas en corriente C10	0,1091	0,0320
Cc8	azúcares totales en corriente C8	4,1700	4,1700	Ec10	fibra en corriente C10	10,1409	3,0100
Dc8	betalaínas en corriente C8	1,1091	0,1091	Ac11	agua en corriente C11	2,520	28,230
Ec8	fibra en corriente C8	10,1409	10,1409	Bc11	etanol en corriente C11	6,030	67,490
Ac9	agua en corriente C9	9,4680	4,0000	Cc11	azúcares totales en corriente C11	0,110	1,240
Bc9	etanol en corriente C9	227,2320	96,0000	Dc11	betalaínas en corriente C11	$2,86 \times 10^{-3}$	0,032
Ac10	agua en corriente C10	95,0480	28,2300	Ec11	fibra en corriente C11	0,270	3,010
Bc10	etanol en corriente C10	227,2320	67,4900	Ac12	agua en corriente C12	60,550	31,380
Cc10	azúcares totales en corriente C10	4,1700	1,2400	Bc12	etanol en corriente C12	120,100	62,240
Dc10	betalaínas en corriente C10	0,1091	0,0320	Cc12	azúcares totales en corriente C12	2,3900	1,2400
Ec10	fibra en corriente C10	10,1409	3,0100	Dc12	betalaínas en corriente C12	0,0660	0,0330
Ac11	agua en corriente C11	2,520	28,230	Ec12	fibra en corriente C12	9,864	5,107
Bc11	etanol en corriente C11	6,030	67,490	Ac13	agua en corriente C13	31,980	23,728
Cc11	azúcares totales en corriente C11	0,110	1,240	Bc13	etanol en corriente C13	101,100	75,000

Corriente	Especificación	Masa (gr)	Fracción (%)	Corriente	Especificación	Masa (gr)	Fracción (%)
Dc11	betalaínas en corriente C11	2,86×10 ⁻³	0,032	Cc13	azúcares totales en corriente C13	1,670	1,240
Ec11	fibra en corriente C11	0,270	3,010	Dc13	betalaínas en corriente C13	0,040	0,032
Ac12	agua en corriente C12	60,550	31,380	Ac14	agua en corriente C14	8,790	31,380
Bc12	etanol en corriente C12	120,100	62,240	Bc14	etanol en corriente C14	17,440	62,240
Cc14	azúcares totales en corriente C14	0,35	1,2400	Bc16	etanol en corriente C16	12,735	75,0000
Dc14	betalaínas en corriente C14	9,25×10 ⁻³	0,033	Cc16	azúcares totales en corriente C16	0,21	1,24
Ec14	fibra en corriente C14	1,430	5,107	Dc16	betalaínas en corriente C16	5,6×10 ⁻³	0,033
Ac15	agua en corriente C15	47,730	32,260	Ac17	agua en corriente C17	24,760	20,000
Bc15	etanol en corriente C15	89,925	60,770	Bc18	etanol en corriente C18	100,550	80,000
Cc15	azúcares totales en corriente C15	1,830	1,240	Ac18	agua en corriente C18	11,250	42,510
Dc15	betalaínas en corriente C15	0,050	0,033	Bc18	etanol en corriente C18	13,235	50,000
Ec15	fibra en corriente C15	8,434	5,700	Cc18	azúcares totales en corriente C18	1,903	7,190
Ac16	agua en corriente C16	4,030	23,727	Dc18	betalaínas en corriente C18	0,079	0,300

Fuente: Elaboración Propia

Tabla IV-10: Resultados del balance de energía

Corriente	Kilowatt (Kw)
Q₁ evaporador	0,2361
Q₂=Q₃ calor de condensación	0,024
Q₄ agitador	0,016

Fuente: Elaboración propia

4.3. Análisis estimativos de los costos de producción a escala laboratorio

A partir de los balances de materia y energía puede estimarse los costos de producción de betalaínas de la raíz de remolacha. Es importante resaltar que el producto obtenido mediante el presente proyecto es la materia prima para el desarrollo de productos como; polvo de betalaínas, alimentos suplementarios y alimentos enriquecidos o puede ser utilizado directamente como colorante.

Para el cálculo de costos se tiene las siguientes referencias de costos: energía eléctrica 0,6 bs/ KWh, de agua es de 0,07 Bs/L, de remolacha es de 5 Bs/Kg y del reactivo alcohol etílico es de 16 Bs/L.

Para el análisis de costos se tiene que de los 100 gramos de pulpa de remolacha, se extraen aproximadamente 0.0764 gr de betalaínas en extracto líquido. La siguiente tabla estima el costo de producción sin considerar el salario del operador.

Tabla IV-11: Costos de producción

Requerimiento Energético						
Proceso	Cantidad	Unidad	Tiempo (hr)	Energía (kw/hr)	Costo unitario (bs)	Costo total (bs)
Agitador	0,016	Kw	2	0,032	0,6	0,0192
Rota-vapor	0,2841	Kw	1	0,2841	0,6	0,1705
Agua	Cantidad	Unidad		Costo unitario (bs)		Costo total (bs)
Lavado de remolacha	0,5	Litros		0,07		0,035
Baño Rota-vapor	4,5	Litros		0,07		0,315
Agua refrigeración	17,16	Litros		0,07		1,201
Materia prima y solvente	Cantidad	Unidad		Costo unitario (bs)		Costo total (bs)
Remolacha	0,1	Kilogramos		5		0,5
Alcohol etílico	0,3	Litros		16		4,8
Costo Total (Bs)						7,0407

Fuente: Elaboración Propia

Para producir aproximadamente 26,47 gr de colorante (que contiene 0,0764 gr de Betalaínas) se requiere 100 g de pulpa de remolacha pelada y rallada; 0,3 litros de alcohol etílico. Por lo tanto, el costo total pronosticado es de 7,0407 Bs; si se considera un factor de seguridad de 1,5 el costo es de 10,561 Bs según el cálculo mostrado a continuación.

$$Costo = C_{calc} \times F_{seg} = 7,0407 \text{ bs} \times 1.5 = 10,561 \text{ bs}$$

Para producir 100 gr de colorante se tiene el siguiente costo:

$$Costo = \frac{masa \times costo}{26,47} = \frac{100 \text{ gr} \times 10,561 \text{ bs}}{26,47 \text{ gr}} = 39,90 \text{ bs}$$

5. Capítulo V

Conclusiones Y Recomendaciones

5.1. Conclusiones

De acuerdo a los objetivos planteados en el presente proyecto, se tienen las siguientes conclusiones.

- La remolacha utilizada para el proceso de extracción es de la variedad Detroit producida en el departamento de Tarija. Los parámetros fisicoquímicos analizados por el laboratorio del CEANID son; humedad del 85,58%, los sólidos solubles con 8,1°Brix, los azúcares totales con un 4,17%, en tanto los azúcares reductores con un 0,59% y el pH de 5,92.
- Las variables estudiadas fueron; relación soluto: solvente y tiempo. Siendo ambas variables determinantes con coeficientes de significancia menores a 0,025.
- Para un mejor rendimiento del proceso el solvente seleccionado fue el alcohol etílico, demostrando mediante experimentación un arrastre de pigmentación mayor al del agua; trabajando a las mismas condiciones en ambos casos de estudio.
- Las condiciones óptimas de extracción son; relación soluto: solvente 1:3 y 120 minutos, correspondiente a los niveles máximos de cada variable, con un rendimiento del 10% en betalaínas dentro del colorante.
- De 100 gramos de pulpa de remolacha rallada al 85,58 % de humedad extraído a las condiciones óptimas, da una lectura de 26,47 gr de colorante extraído con una masa de 0.0764 gr de Betalaína. Las pérdidas se debe a que en el proceso de filtración y compresión no se recupera el total de líquido concentrado de betalaínas.
- Se estableció que la concentración para betalaínas, de acuerdo a balance de materia, es de 794 ppm, la cual coincide ampliamente con la calculada en análisis espectrofotométrico siendo esta de 712,5 ppm.

- Las betalaínas obtenidas tienen un color rojizo característico, con un aroma dulce y penetrante.

5.2. Recomendaciones

- ✓ La cristalización de las betalaínas en medio básico puede ser innecesaria ya que alteraría el viraje en el color del producto; por consiguiente, se recomienda aplicar ensayos de liofilización o semillamiento sobre el colorante líquido para su obtención en forma cristalizada
- ✓ El tipo de corte permite optimizar superficies de contacto, por ello en futuros estudios se recomienda modificar el tipo de corte en la materia prima, por ejemplo, triturarla.
- ✓ Para futuros estudios sobre las betalaínas, se debe evaluar la degradación de la betalaína respecto al tiempo, debido a que la betalaína puede isomerizarse y finalmente degradarse.
- ✓ Se recomienda el análisis granulométrico para un futuro estudio, pudiéndose optimizar el proceso de transferencia de masa, debido a que uno de los parámetros que tiene influencia en el proceso de extracción es el tamaño de partícula del sólido.
- ✓ Se recomienda analizar y evaluar inestabilidad de las Betalaínas frente a factores ambientales (luz, oxígeno, temperatura, agua).

BIBLIOGRAFÍA

García L. (2012).*Betalainas, Compuestos Fenólicos y Actividad Antioxidante en Pitaya de Mayo (Stenocereus Griseus H.).* Investigación Aplicada (Licenciada en Ingeniería Forestal) Universidad Autónoma Chapingo, Facultad de Ingeniería. Chapingo (México).

Aceituno V. M. (2010).*Propiedades de Colorantes Naturales Secados con Técnicas Alternativas a Nivel Laboratorio como Alternativa al FD&C Rojo N°40 En Alimentos.* Investigación Aplicada (Licenciado en Ingeniería Química) Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería. San Carlos (Guatemala).

Trujillo S. J. (2010).*Obtención de Colorantes Naturales a partir de Cascara Allium Cepa (Cebolla Blanca y Morada) y Raíz de Beta Vulgaris (Remolacha) para su Aplicación en la Industria Textil.* Investigación Aplicada (Licenciada en Química y Farmacia) Universidad de El Salvador, Facultad de Química y Farmacia. El Salvador (San Salvador).

Vergara C. C. (2013).*Extracción y Estabilización de Betalainas de Tuna Púrpura (Opuntia Ficus-Indica) Mediante Tecnología de Membranas y Microencapsulación, como Colorante Alimentario.* Investigación Aplicada (Doctor en Nutrición y Alimentos) Universidad de Chile, Facultad de Medicina. Santiago (Chile).

García V. R. (2008).*Evolución de Compuestos Funcionales durante la Maduración de Frutos de Opuntia Stricta.* Investigación Aplicada (Licenciada en Ingeniería Agronómica) Universidad Politécnica de Cartagena, Facultad de Ciencias Agrarias y Alimentarias. Cartagena (Colombia).

Yanchapanta D. C. (2011).*Obtención de un Colorante Natural la Betalaina a partir de la Remolacha (Beta Vulgaris) para su Aplicación en Alimentos y Bebidas, sin que sus Propiedades Organolépticas (Sabor y Olor) afecten su Utilidad.* Investigación Aplicada (Licenciada en Ingeniería Bioquímica) Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos. Ambato (Ecuador).

Fajardo J. (2014).*Obtención de Colorantes.* Investigación Aplicada (Licenciada en Ingeniería Química) Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Químicas. Cuenca (Ecuador).

Saavedra M. (2016).*Obtención de Licopeno del Tomate.* Investigación Aplicada (Licenciada en Ingeniería Química) Universidad Autónoma Juan Misael Saracho, Facultad de Ciencias y Tecnología. Tarija (Bolivia).

Castillo I. (2013).*Estabilidad de betalaínas en una mezcla seca para bebidas refrescantes, a base de pulpa y extracto de tuna púrpura (opuntia ficus-indica) microencapsuladas.* Investigación Aplicada (Licenciada en Ingeniería de Alimentos) Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Santiago (Chile).

Sánchez N. (2006).*Extracción y caracterización de los principales pigmentos del Opuntia Joconoste.* Investigación Aplicada (Maestro en Tecnología Avanzada) Instituto Politécnico Nacional, Facultad de Tecnología Avanzada. Distrito Federal (México).

Betancourt O. (2015).*Aislamiento, caracterización, estabilidad y actividad antioxidante In-vitro de los pigmentos tipo Betalaínas del fruto de Opuntia Dillenii.* Investigación Aplicada (Licenciada en Ciencias Químicas) Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Juan Pablo de Pasto.

Orellana L. (2015). *Extracción y caracterización de los pigmentos naturales presentes en beta vulgaris (remolacha) para la propuesta de una formulación cosmética y evaluación de su estabilidad fisicoquímica y microbiológica.* Investigación Aplicada (Licenciada en Químico Farmacéutica) Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. San Carlos (Guatemala).

García F.; Gandía F.; Escribano J. (2011, Marzo 23). *Flores Fluorescentes.* [Artículo en línea] pp 57. Fecha de consulta: 30 de mayo de 2016.

Disponible en: <http://www.investigacionyciencia.es/files/2981.pdf>

Profitocoop. (2008, Julio 21). *Betalainas: Colorantes Naturales con Actividad Antioxidante*. [Artículo en línea] pp 7. Fecha de consulta: 6 de junio de 2016.

Disponible en: <http://www.profitocoop.com.ar/articulos/Betala%EDnas.pdf>

IBCE. (2009, Abril 27). *Perfil de Mercado Colorantes Naturales Urucú (Achiote)*. [Artículo en línea] pp 20. Fecha de consulta: 6 de junio de 2016.

Disponible en: http://www.santacruztrade.com.bo/images/sectores_exporte/colorante-achiote-perfil-mercado.pdf

AREX. (2013, Noviembre 06). *Perfil Comercial Beterraga*. [Artículo en línea] pp 44. Fecha de consulta: 24 de mayo de 2016.

Disponible

en: http://www.sierraexportadora.gob.pe/perfil_comercial/PERFIL%20COMERCIAL%20BETERRAGA.pdf

Alimentos.CC. *Remolacha*. Fecha de consulta: 29 de mayo de 2016, de:

<http://alimentos.cc/remolacha>

Wikipedia. (2016, Mayo 08). *Beta Vulgaris*. Fecha de consulta: 10 de junio de 2016, de:

https://es.wikipedia.org/wiki/Beta_vulgaris

REGMURCIA. *Remolacha*. Fecha de consulta: 29 de mayo de 2016, de:

http://www.regmurcia.com/servlet/s.SI?sit=c,543,m,2714&r=ReP-23592-DETALLE_REPORTAJESPADRE

EROSKICONSUMER. *Hortalizas y Verduras*. Fecha de consulta: 09 de junio de 2016, de:

<http://verduras.consumer.es/remolacha/introduccion>

EUFIC. *Los Orígenes del Azúcar de Remolacha*. Fecha de consulta: 10 de junio de 2016, de:

<http://www.eufic.org/article/es/artid/azucar-de-remolacha/>

KRAMES. *Alimentos, Hierbas y Suplementos*. Fecha de consulta: 10 de junio de 2016, de:

<http://ssov3nd.staywellsolutionsonline.com/Spanish/NaturalStandard/Herbs/153,beet-sp>

Wikipedia. (2016, Junio 12). *Betanina*. Fecha de consulta: 14 de junio de 2016, de:

<https://es.wikipedia.org/wiki/Betanina>

InfoAGRO. *El Cultivo de la Remolacha Azucarera*. Fecha de consulta: 09 de junio de 2016, de:

http://www.infoagro.com/herbaceos/industriales/remolacha_azucarera.htm

ANEXOS

ANEXO I

**ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE LA MATERIA PRIMA Y EL
PRODUCTO**

Análisis fisicoquímico de la materia prima

CEANID-FOR-RR
Versión 01
Fecha de emisión: 2016-10-31



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA "JUAN MISAEL SARACHO"
FACULTAD DE "CIENCIAS Y TECNOLOGIA"
CENTRO DE ANÁLISIS, INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO "CEANID"
Laboratorio Oficial del Ministerio de Salud y Deportes
Red de Laboratorios Oficiales de Análisis de Alimentos
Red Nacional de Laboratorios de Micronutrientes
Laboratorio Oficial del "SENASAG"



INFORME DE ENSAYO

I. INFORMACIÓN DEL SOLICITANTE

Cliente:	Raquel Carvallo Ramirez		
Solicitante:	Raquel Carvallo Ramirez		
Dirección:	Av. La Paz entre Avaroa y Ciro Trigo		
Teléfono/Fax:	6634726	Correo-e:	****
		Código:	AL 001/17

II. INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

Descripción de la muestra:	Remolacha		
Código de muestreo:	*****	Fecha de vencimiento:	*****
		Lote:	*****
Fecha y hora de muestreo:	2017-01-31 Hrs 07:00		
Procedencia (Localidad/Prov/ Dpto)	Tarija - Cercado - Tarija Bolivia		
Lugar de muestreo:	Mecdo. Campesino		
Responsable de muestreo:	Raquel Carvallo Ramirez		
Código de la muestra:	001 FQ 001	Fecha de recepción de la muestra:	2017-01-31
Cantidad recibida:	1500 g	Fecha de ejecución de ensayo:	De 2017-01-31 al 2017-02-08

III. RESULTADOS

PARÁMETRO	TECNICA y/o MÉTODO DE ENSAYO	UNIDAD	RESULTADO	LIMITES PERMISIBLES		REFERENCIA DE LOS LIMITES
				Mín.	Max.	
Azúcares totales	Volumetría	%	4,17	Sin Referencia		Sin Referencia
Azúcares reductores	Volumetría	%	0,59	Sin Referencia		Sin Referencia
Humedad	NB 313010:05	%	85,58	Sin Referencia		Sin Referencia
pH (20°C)	NB 338006:09		5,92	Sin Referencia		Sin Referencia
Sólidos solubles (20°C)	NB 36003:02	*Brix	8,1	Sin Referencia		Sin Referencia

NB: Norma Boliviana
% Porcentaje

- 1) Los resultados reportados se remiten a la muestra ensayada en el Laboratorio
- 2) El presente informe solo puede ser reproducido en forma parcial y/o total, con la autorización del CEANID
- 3) Los datos de la muestra y el muestreo, fueron suministrados por el cliente

Tarija, 08 de febrero de 2017

Ing. Adalid Aceituno Cáceres
JEFE DEL CEANID



Análisis fisicoquímico del producto



UNIVERSIDAD AUTONOMA "JUAN MISAEL SARACHO"
 FACULTAD DE "CIENCIAS Y TECNOLOGIA"
 CENTRO DE ANALISIS, INVESTIGACION Y DESARROLLO "CEANID"
 Laboratorio Oficial del Ministerio de Salud y Deportes
 Red de Laboratorios Oficiales de Análisis de Alimentos
 Red Nacional de Laboratorios de Micronutrientes
 Laboratorio Oficial del "SENASAG"



INFORME DE ENSAYO

I. INFORMACIÓN DEL SOLICITANTE

Cliente:	Raquel Carvallo Ramirez				
Solicitante:	Raquel Carvallo Ramirez				
Dirección:	Av. La Paz entre Avaroa y Ciro Trigo				
Teléfono/Fax:	6634726	Correo-e:	****	Código:	AL 022/17

II. INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

Descripción de la muestra:	Colorante concentrado de remolacha		
Código de muestreo:	*****	Fecha de vencimiento:	*****
Lote:	*****		
Fecha y hora de muestreo:	2017-02-22		
Procedencia (Localidad/Prov/ Dpto):	Tarija - Cercado - Tarija Bolivia		
Lugar de muestreo:	Lugar de elaboración		
Responsable de muestreo:	Raquel Carvallo Ramirez		
Código de la muestra:	064 FQ 041	Fecha de recepción de la muestra:	2017-02-22
Cantidad recibida:	300 ml	Fecha de ejecución de ensayo:	De 2017-02-22 al 2017-03-06

III. RESULTADOS

PARÁMETRO	TECNICA y/o MÉTODO DE ENSAYO	UNIDAD	RESULTADO	LIMITES PERMISIBLES		REFERENCIA DE LOS LIMITES
				Min.	Max.	
Azúcares totales	Volumetria	%	7,19	Sin Referencia		Sin Referencia
Azúcares reductores	Volumetria	%	0,34	Sin Referencia		Sin Referencia
Color	Organoléptico		Rojo Púrpura	Sin Referencia		Sin Referencia
Sólidos Solubles(20°C)	NB 36003.02	° Brix	21,2	Sin Referencia		Sin Referencia
pH (20°C)	NB 338006.09		6,56	Sin Referencia		Sin Referencia

NB Norma Boliviana
 % Porcentaje

- 1) Los resultados reportados se remiten a la muestra ensayada en el Laboratorio
- 2) El presente informe solo puede ser reproducido en forma parcial y/o total, con la autorización del CEANID
- 3) Los datos de la muestra y el muestreo, fueron suministrados por el cliente

Tarija, 06 de marzo de 2017


 Ing. Raquel Aceituno Cáceres
 JEFE DEL CEANID





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA "JUAN MISAEL SARACHO"
 FACULTAD DE "CIENCIAS Y TECNOLOGÍA"
 CENTRO DE ANÁLISIS, INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO "CEANID"
 Laboratorio Oficial del Ministerio de Salud y Deportes
 Red de Laboratorios Oficiales de Análisis de Alimentos
 Red Nacional de Laboratorios de Micronutrientes
 Laboratorio Oficial del "SENASAG"



INFORME DE ENSAYO

I. INFORMACIÓN DEL SOLICITANTE

Cliente:	Raquel Carvallo Ramirez		
Solicitante:	Raquel Carvallo Ramirez		
Dirección:	Av. La Paz entre Avaroa y Ciro Trigo		
Teléfono/Fax:	6634726	Correo-e:	****
		Código:	AL 099/17

II. INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

Descripción de la muestra:	Colorante líquido de remolacha		
Código de muestreo:	*****	Fecha de vencimiento:	*****
		Lote:	*****
Fecha y hora de muestreo:	2017-05-05		
Procedencia (Localidad/Prov/ Dpto)	Tarija - Cercado - Tarija Bolivia		
Lugar de muestreo:	L O U. - U.A.J.M.S		
Responsable de muestreo:	Raquel Carvallo Ramirez		
Código de la muestra:	674 FQ 503	Fecha de recepción de la muestra:	2017-05-08
Cantidad recibida:	100 ml	Fecha de ejecución de ensayo:	De 2017-05-08 al 2017-05-16

III. RESULTADOS

PARÁMETRO	TECNICA y/o MÉTODO DE ENSAYO	UNIDAD	RESULTADO	LIMITES PERMISIBLES		REFERENCIA DE LOS LIMITES
				Min.	Max.	
Sólidos totales	NB 36003.02	%	7,49	Sin Referencia		Sin Referencia

NB: Norma Boliviana
 % Porcentaje

- 1) Los resultados reportados se remiten a la muestra ensayada en el Laboratorio
- 2) El presente informe solo puede ser reproducido en forma parcial y/o total, con la autorización del CEANID
- 3) Los datos de la muestra y el muestreo, fueron suministrados por el cliente

Tarija, 16 de mayo de 2017

P. P. Aceituno Cáceres
 Ing. Adalid Aceituno Cáceres
 JEFE DEL CEANID

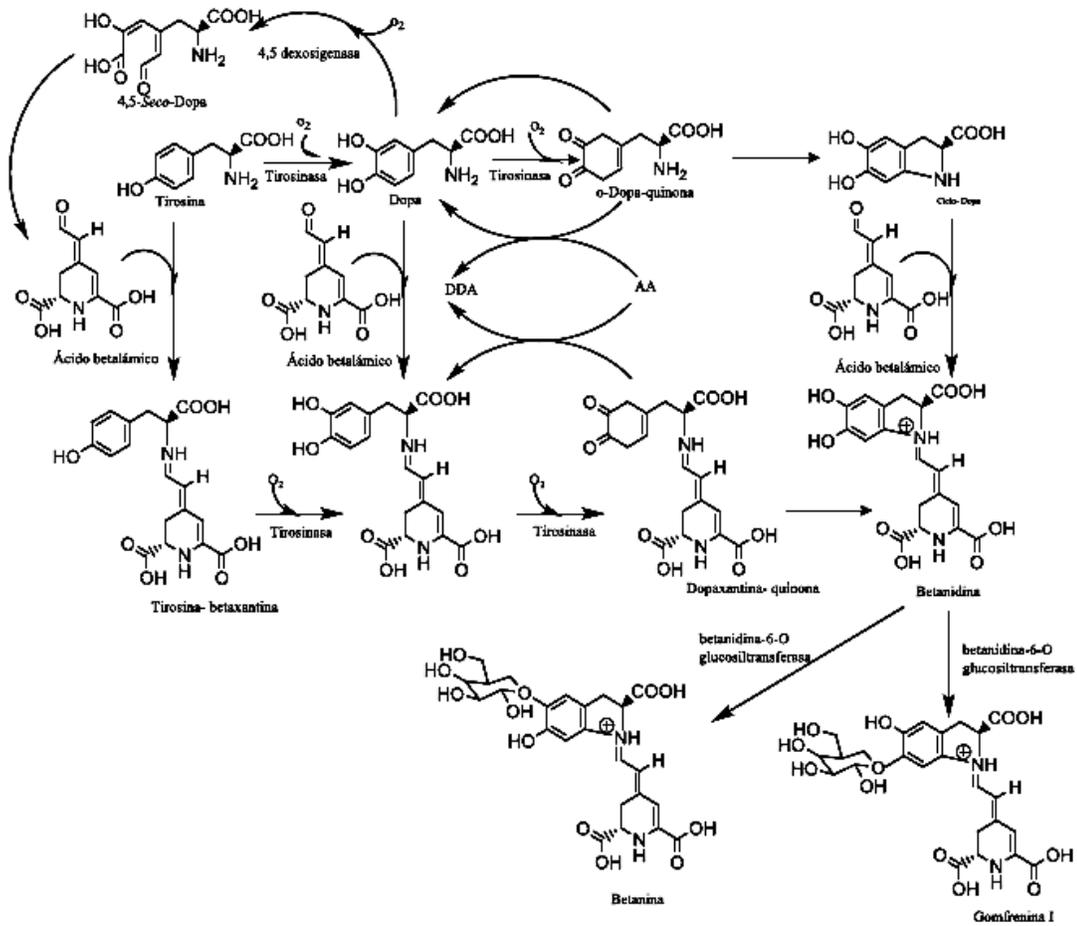


ANEXO II

RUTA METABÓLICA PARA LA BIOSÍNTESIS DE

BETALAÍNAS

Ruta metabólica para la biosíntesis de betalainas



La ruta biosintética de las Betalainas parte del aminoácido Tirosina, que se incorpora completamente a la unidad estructural de estos pigmentos, el ácido Betalámico. En las betalainas color violeta (betacianinas), se incorpora además una segunda unidad de Tirosina. Solo dos enzimas controlan la formación de esta familia de pigmentos: la dioxigenasa y la tirosinasa; una tercera: la glucosiltransferasa, cataliza la formación de derivados de las betacianinas. La condensación del ácido betalámico con aminoácidos y aminas es espontánea lo que genera gran cantidad de estructuras.

ANEXO III

SELECCIÓN DEL SOLVENTE Y PROCESO EN LA PARTE

EXPERIMENTAL

Selección del solvente en la parte experimental



En la imagen izquierda se utilizó agua como solvente, mientras que en la derecha se utilizó alcohol etílico ambos sometidos a agitación durante 1 hora a 40°C. Como se puede observar, el poder extractor del alcohol como solvente es superior al del agua por lo que se lo elige como solvente en el proceso.

Selección del proceso en la parte experimental



En esta imagen observamos en el lado izquierdo la cantidad de colorante extraído del proceso de compresión, mientras que en el lado derecho se observa el colorante obtenido del proceso de centrifugado. De esta manera, en base al rendimiento, se elige el proceso de extracción por compresión.

ANEXO IV

SEGUNDA EXTRACCIÓN DEL COLORANTE CON SOLVENTE

Segunda extracción de colorante a partir de sólidos en proceso de prensado



Con la finalidad de determinar si es factible realizar una segunda extracción con los sólidos que salen del prensado, se trataron estos sólidos con etanol al 96%. Como se puede apreciar en las imágenes, el producto no posee cantidades importantes de colorante por lo que se descarta una segunda extracción en el proceso.

ANEXO V

**TRATAMIENTO DEL COLORANTE CON HIDRÓXIDO DE
CALCIO**

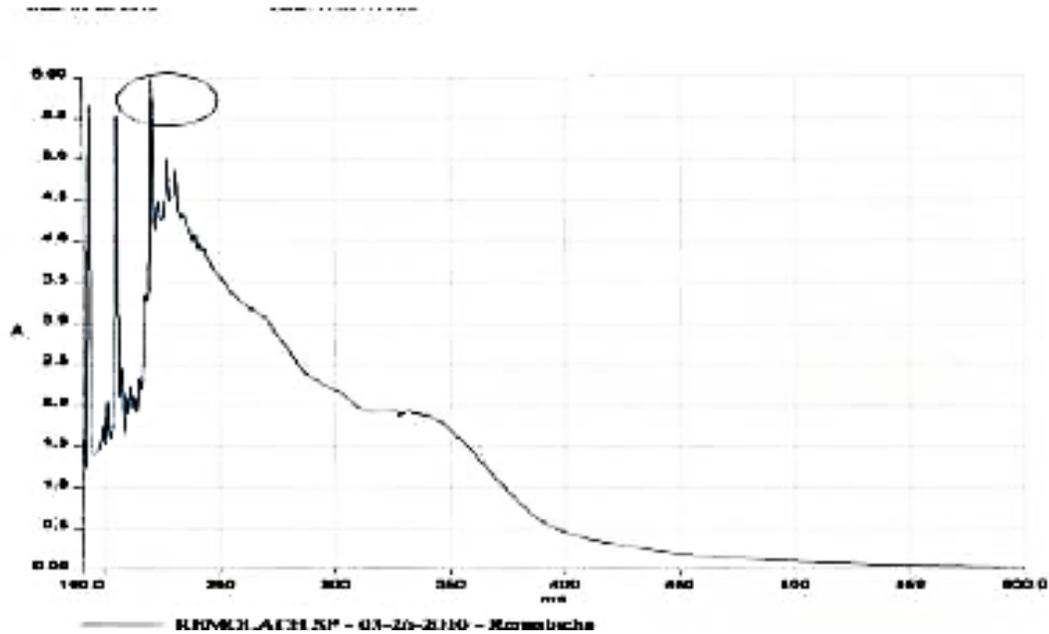
Tratamiento del colorante con hidróxido de calcio



Como el colorante contiene en su composición el ácido betalámico, se planteó la hipótesis de tratarlo con una base $\text{Ca}(\text{OH})_2$ para lograr cristalizarlo en forma de sal; no obstante, al titular el colorante concentrado con la solución de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ al 0.5N cambia el viraje del colorante tornándose de color rojo intenso a amarillo brillante cuanto más se sature con la base, por lo tanto se descarta la posibilidad de cristalización utilizando una base.

ANEXO VI
ESPECTRO DE BETALAÍNAS EN UV-VIS

Espectro de Betalaínas en UV-Vis



Fuente: Proyecto de investigación, Obtención de un colorante natural “la Betalaína” a partir de la remolacha, Yanchapanta D. 2011

El siguiente espectro obtenido es de los cristales disueltos en solución etanol-agua.

En el espectro Beta vulgaris (Remolacha) se observa un máximo pico de absorción a una longitud de onda de $\lambda = 536.00$ nm.

ANEXO VII

DATOS ESTADÍSTICOS DE LA PARTE EXPERIMENTAL

Factores Inter-Sujetos

		N
Relación	-1	9
	0	9
	1	9
Tiempo	-1	9
	0	9
	1	9

Esta tabla muestra las variables necesarias para aplicar el cálculo estadístico en SPSS

Análisis de Varianza

Variable dependiente: Rendimiento					
Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	626,847 ^a	8	78,356	935,282	0,000
Intersección	62263,692	1	62263,692	7432000,573	0,000
Relación	246,326	2	123,163	1470,113	0,000
Tiempo	322,020	2	161,010	1921,872	0,000
Rel*Tiempo	58,501	4	14,625	174,571	0,000
Error	1,508	18	0,084		
Total	62892,047	27			
Total corregida	628,355	26			
a. R cuadrado = 0,998 (R cuadrado corregida = 0,997)					

Como se puede apreciar en el cuadro de análisis de varianza, el grado de significancia es 0 para todas las variables, por tanto, podemos concluir con todas son significantes para la ecuación característica en la parte experimental.

ANEXO VIII
ANÁLISIS QUE REALIZA CEANID

Análisis que realiza CEANID

CENTRO DE ANÁLISIS, INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO			
Solicitud de Servicios de Ensayos de Alimentos			
III. Ensayos Solicitados			
Parámetros físicoquímicos			
<input type="checkbox"/> Acidez titulable <input type="checkbox"/> Acidez total <input type="checkbox"/> Arsénico <input type="checkbox"/> Antimonio <input checked="" type="checkbox"/> Azúcares reductores <input checked="" type="checkbox"/> Azúcares totales <input type="checkbox"/> Benzoatos <input type="checkbox"/> Bromato de potasio <input type="checkbox"/> Carbohidratos <input type="checkbox"/> Cadmio <input type="checkbox"/> Calcio <input type="checkbox"/> Ceniza <input type="checkbox"/> Cobalto <input type="checkbox"/> Ciclamatos <input type="checkbox"/> Color <input type="checkbox"/> Conductividad eléctrica <input type="checkbox"/> Colorantes	<input type="checkbox"/> Cobre <input type="checkbox"/> Cromo <input type="checkbox"/> Cloruro de sodio <input type="checkbox"/> Densidad relativa <input type="checkbox"/> Extracto seco total <input type="checkbox"/> Fibra <input type="checkbox"/> Fósforo <input type="checkbox"/> Gluten húmedo <input type="checkbox"/> Gluten seco <input type="checkbox"/> Grasa <input type="checkbox"/> Hierro <input type="checkbox"/> Humedad y material volátil <input checked="" type="checkbox"/> Humedad <input type="checkbox"/> Índice de peróxido <input type="checkbox"/> Índice de refracción <input type="checkbox"/> Índice de saponificación <input type="checkbox"/> Índice de solubilidad	<input type="checkbox"/> Lípidos totales <input type="checkbox"/> Lactosa <input type="checkbox"/> Materia insoluble en agua <input type="checkbox"/> Materia insaponificable <input type="checkbox"/> Magnesio <input type="checkbox"/> Manganeso <input type="checkbox"/> Metanol <input type="checkbox"/> Nitritos <input type="checkbox"/> Nitrógeno amoniacal <input type="checkbox"/> Nitrógeno básico vol. Total <input type="checkbox"/> Níquel <input type="checkbox"/> Litio <input type="checkbox"/> Plomo <input type="checkbox"/> Polarización <input type="checkbox"/> Proteína total <input type="checkbox"/> Prueba de cocción <input checked="" type="checkbox"/> pH	<input type="checkbox"/> Potasio <input type="checkbox"/> Pureza <input type="checkbox"/> Rancidez <input type="checkbox"/> Sacarosa <input type="checkbox"/> Sodio <input type="checkbox"/> Sólidos solubles <input type="checkbox"/> Sólidos insolubles <input type="checkbox"/> Sólidos no grasos <input checked="" type="checkbox"/> Sólidos solubles ("Brix") <input type="checkbox"/> Sólidos no grasos <input type="checkbox"/> Sulfatos <input type="checkbox"/> Valor energético <input type="checkbox"/> Yodo <input type="checkbox"/> Zinc
Parámetros microbiológicos		Parámetros organolépticos	
<input type="checkbox"/> Coliformes fecales <input type="checkbox"/> Coliformes totales <input type="checkbox"/> Mohos y Levaduras <input type="checkbox"/> Bacterias aeróbias mesófilas <input type="checkbox"/> Escherichia coli <input type="checkbox"/> Salmonella	<input type="checkbox"/> Shigella <input type="checkbox"/> Staphylococcus aureus <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Aspecto <input type="checkbox"/> Color <input type="checkbox"/> Olor <input type="checkbox"/> Sabor <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
<input checked="" type="checkbox"/> El CEANID cuenta con los materiales, reactivos y equipos necesarios para la ejecución de los ensayos solicitados.			

Como se puede observar en la imagen, el CEANID no realiza análisis de betalaínas y al no contar con un laboratorio que realice este tipo de análisis, es que se toma el dato bibliográfico (ver tabla II-4) para cantidad de betalaínas en el balance de materia

ANEXO IX
CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS DE LOS EQUIPOS
UTILIZADOS

Balanza Analítica Electrónica



Voltaje: 220 V

Frecuencia: 50 Hz

Tiempo de estabilización: 2/3 segundos

Temperatura de trabajo: 10-40°C

Dimensiones: 210×355×120 mm

Peso: 6,4 Kg

Capacidad máxima de peso: 500 gr

Error: 0,01 gr

Rota-evaporador



Voltaje: 230/240 V

Potencia: 1320 W

Frecuencia: 50/60 Hz

Velocidad: 0 - 270rpm

Temperatura de operación: 30 – 180°C

Centrífuga



Volumen máximo: 800ml

Rcf máxima: 4158 x g

Aceleración: 10-500 Rmp/seg

Frenado: 500-10 Rpm/seg

Velocidad: 300-1500 Rpm

Temperatura: 0-40°C

Dimensiones: 380×460×520 cm

Peso: 35 Kg

Potencia: 600 W

Agitador Magnético



Voltaje: 230 V

Potencia: 640 W

Frecuencia: 50 Hz

Temperatura máxima: 350°C

Velocidad: 60 – 1600 rpm

Dimensiones: 17×16×25 cm

Peso: 3,5 kg

Filtro-Prensa



Función: Extracción de jugos

Capacidad máxima de carga: 400 gr

Dimensiones: 25.3×27,9×50.4 cm

Material de hoja: Acero inoxidable

Material de la vivienda: Acero inoxidable

Método de colocación: Portátil

Ajuste de la velocidad: Manual

Potencia (W): Ninguna

Tipo: Manual Press

Voltaje (V): Ninguno

Espectrofotómetro Cary 60



Voltaje: 230 V

Potencia: 365 W

Frecuencia: 60 Hz

Peso: 8,5 Kg

Dimensiones: 46,5×36,5×17,5 cm

Rango de longitud de onda: 320 – 1000 nm

ANEXO X
GALERÍA DE FOTOS

Raíz de remolacha pelada y rallada



Mezcla de remolacha-etanol en agitador



Separación de colorante líquido y parte solida después de agitación



Extracción de parte líquida en filtro-prensa



Residuo sólido de filtro-prensa



Concentración de colorante y recuperación de alcohol étílico en Rota-evaporador



Alcohol etílico recuperado al 80%



Colorante almacenado



Vista microscópica de las betalaínas dentro del tejido parenquimático de la raíz tuberosa de remolacha.

