

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

Con la creciente preocupación por los efectos adversos de los colorantes sintéticos, los colorantes naturales como las betalaínas han ganado relevancia, además de sus aplicaciones en la industria alimentaria, estos pigmentos ofrecen propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y beneficios para la salud que pueden ser aprovechados. (Moreno et al, 2008).

El proceso de extracción de betalaínas puede ser influenciado significativamente por el tipo de solvente utilizado, investigaciones recientes han demostrado que una combinación de etanol y agua es eficaz para la extracción de estos compuestos, proporcionando un equilibrio óptimo entre rendimiento, estabilidad y pureza del colorante. (Strack et al, 2003).

Comprender cómo este proceso afecta la calidad de las betalaínas es crucial para su aplicación efectiva en productos alimentarios, dado que las betalaínas son hidrofílicas, los métodos desarrollados para su extracción incluyen el uso de agua, mezclas de metanol y etanol-agua en diferentes proporciones, así como acetato de etilo, los cuales afectan directamente el rendimiento y la estabilidad del colorante (Calva et al, 2022).

La remolacha ha sido ampliamente reconocida como una fuente rica en betalaínas, con notables variaciones en la composición dependiendo de factores genéticos y ambientales (Gómez et al., 2018). Estudios han demostrado que la variedad de remolacha y las condiciones de cultivo pueden influir significativamente en el contenido y la calidad de las betalaínas extraídas (Xie & Chen, 2021).

En Bolivia, la producción de remolacha se estima en aproximadamente 23,730 toneladas anuales, con una superficie de cultivo de 1,234 hectáreas a nivel nacional (INE, 2022). Sin embargo, en el Departamento de Tarija, la producción es significativamente menor, con una superficie de cultivo de alrededor de 200 hectáreas y una producción de aproximadamente 3,840 toneladas (INE, 2022). A pesar de estos niveles de producción, el consumo de remolacha en la dieta diaria es relativamente bajo, lo que limita su utilización como ingrediente funcional. Sin embargo, la

producción de remolacha en Tarija representa una oportunidad valiosa para su valorización mediante la extracción de betalaínas. Este enfoque no solo puede diversificar el uso de la remolacha al agregar valor a un subproducto de bajo consumo, sino que también puede contribuir positivamente a la economía local y fortalecer la industria de colorantes naturales en la región (INE, 2022).

La buena aceptación de la remolacha en el consumo nacional ha llevado a un incremento en su producción, lo que presenta una oportunidad para desarrollar productos derivados de la misma mediante procesos adecuados de transformación. La extracción de betalaínas como colorante natural para la industria alimentaria, incluida la repostería, podría maximizar el aprovechamiento de este producto (AREX, 2013).

Ante la creciente necesidad de valorar cultivos locales subutilizados como la remolacha, la investigación en torno a sus compuestos pigmentarios, como las betalaínas, se vuelve relevante por su potencial aplicación en diversas áreas científicas. Aunque estos compuestos son conocidos por sus propiedades antioxidantes y su capacidad para actuar como colorantes naturales, en el contexto local de Tarija existe una limitada investigación sobre las condiciones técnicas que influyen en su extracción. En este sentido, estudiar cómo factores como el pH, el tiempo de contacto y la proporción de etanol-agua afectan el rendimiento del proceso de extracción permite generar conocimientos útiles para fortalecer la ciencia de los alimentos y abrir nuevas líneas de investigación aplicadas a materias primas vegetales de la región.

1.2 Justificación

- El presente trabajo experimental tiene como finalidad determinar el rendimiento de la extracción de betalaínas a partir de remolacha (*Beta vulgaris*); utilizando como solvente (etanol - agua).
- Así mismo, se busca analizar el efecto de las variables como ser el tiempo de extracción, pH y concentración del solvente sobre el rendimiento del concentrado de betalaínas de la remolacha.

- La extracción de betalaínas puede constituirse en una alternativa en la dieta de las personas como efecto antioxidante y antiinflamatorio, ya que los mismos permiten mejorar la salud nutricional por el efecto funcional que poseen estos pigmentos de origen vegetal.
- Considerando la significativa producción de remolacha en la provincia Cercado y su bajo consumo de este tubérculo por parte de las personas, este trabajo de investigación busca proponer una alternativa de aprovechamiento para mejorar el valor agregado en la industria alimentaria de este vegetal mediante la extracción de betalaínas.

1.3 Objetivos

A continuación, se detallan los objetivos planteados en el presente Trabajo de Investigación.

1.3.1 Objetivo general

Aplicar los principios de extracción de betalaínas de remolacha (*Beta vulgaris*) a nivel experimental, mediante solvente (agua-etanol), para obtener extracto concentrado, en la provincia Cercado - Tarija.

1.3.2 Objetivos específicos

- Determinar las propiedades físicas de la remolacha con la finalidad de conocer la porción comestible y no comestible.
- Determinar las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas de la remolacha con la finalidad de conocer su composición nutricional.
- Establecer la longitud de onda óptima y construir la curva patrón del extracto comercial de betalaínas para facilitar su cuantificación espectrofotométrica.
- Evaluar los valores de absorbancia y transmitancia obtenidos de extractos de betalaínas mediante espectrofotometría UV - Visible, con el fin de interpretar su comportamiento óptico.

- Analizar el efecto de la concentración del solvente, tiempo de maceración y pH sobre el rendimiento de extracción para optimizar las condiciones experimentales que influyen en la eficiencia del proceso.
- Aplicar un diseño factorial 2^3 para evaluar el efecto de la concentración del solvente, el tiempo de extracción y el pH sobre el rendimiento del extracto, con el objetivo de optimizar las condiciones experimentales para la extracción de betalaínas.

1.4 Planteamiento del problema

En la provincia Cercado de Tarija existe una importante producción de remolacha (*Beta vulgaris*) a la cual no se le da la importancia en el consumo y no es aprovechado totalmente como subproducto con valor agregado debido, al poco conocimiento de sus propiedades nutricionales que este tubérculo; contiene componentes de origen vegetal (betalaínas) que son antioxidantes esenciales para la dieta alimentaria.

Con la aplicación del método experimental por solvente (etanol-agua) se podrá extraer concentrado de betalaínas a partir de la remolacha que permita contribuir a la formulación de componentes de origen vegetal.

1.5 Formulación del problema

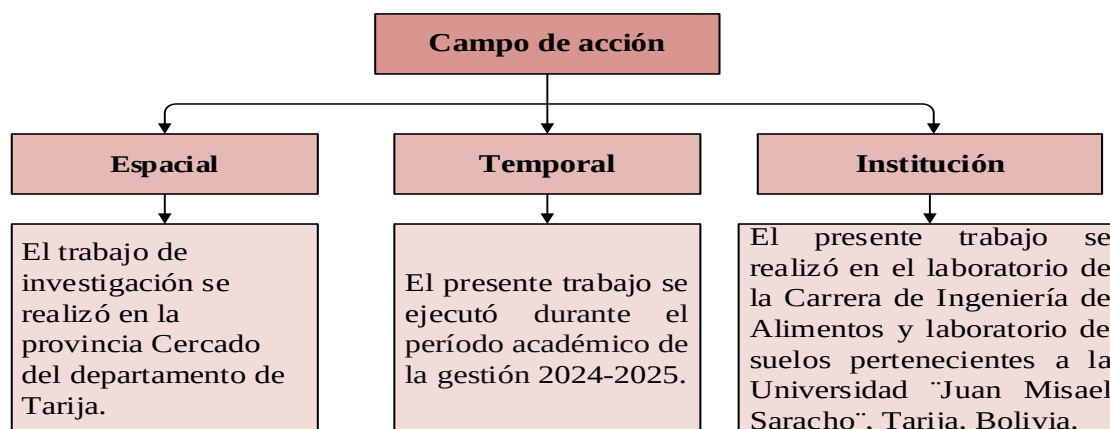
¿Es posible aplicar los principios de extracción de betalaínas de remolacha (*Beta vulgaris*) a nivel experimental, mediante solvente (agua-etanol), para obtener extracto concentrado en la provincia Cercado - Tarija?

1.6 Objeto de estudio

Extracción de betalaínas de remolacha (*Beta vulgaris*) mediante método por solvente.

1.7 Campo de acción

En la Figura 1.1 se muestra el campo de acción para el presente trabajo de investigación de extracción de betalaínas a partir de remolacha.



Fuente: Elaboración propia

Figura 1.1: Campo de acción

1.8 Planteamiento de la hipótesis

La aplicación de los principios de extracción de betalaínas de remolacha (*Beta vulgaris*) con solventes (agua-etanol) a nivel experimental, permitirá obtener un extracto concentrado de betalaínas, en la provincia Cercado del departamento de Tarija.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Origen de las betalainas

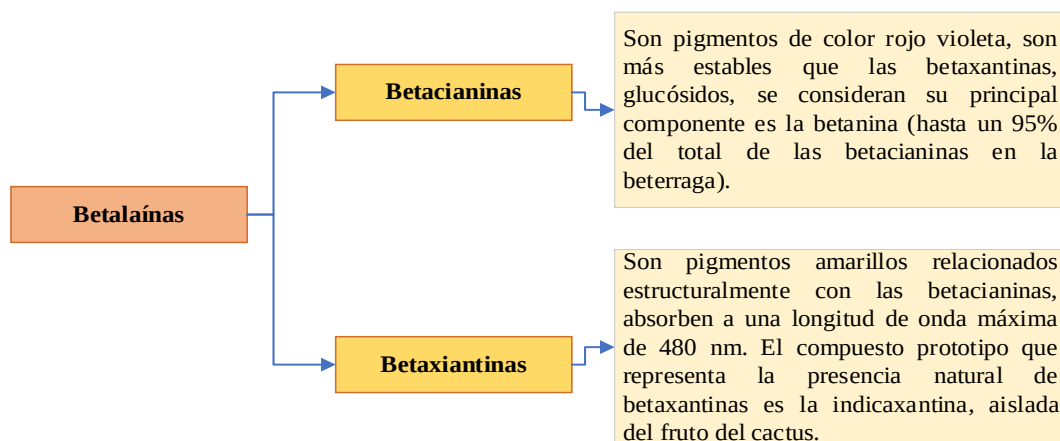
Las betalainas fueron aisladas y caracterizadas por primera vez en 1957 por los químicos suizos Hans Wyler y Albert S. Dreiding en la Universidad de Zúrich. Lograron extraer cristales de betanina, un tipo de betalaina, de la raíz de remolacha (*Beta vulgaris*). Este descubrimiento fue crucial, ya que permitió diferenciar las betalainas de las antocianinas, que previamente se pensaba que eran los mismos compuestos debido a sus similitudes en coloración. (Wyler & Dreiding, 1957)

2.2 Definición de betalainas

Las betalainas de remolacha son pigmentos naturales que se encuentran en las raíces de la remolacha (*Beta vulgaris*). Estos compuestos son responsables de los colores característicos de la remolacha, que van desde el rojo oscuro a la púrpura intensa. (Gandia et al, 2013)

2.3 Clasificación de las betalainas

En la Figura 2.1 se muestra la clasificación de las betalainas, como son:

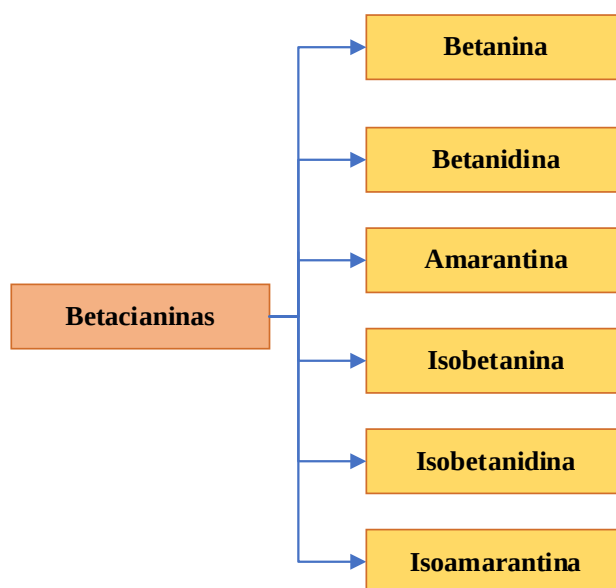


Fuente: Rojas, 2015

Figura 2.1: Clasificación de betalainas.

2.4 Tipos de betacianinas

En la Figura 2.2 se muestran los tipos de las betacianinas:



Fuente: Carvallo, 2017

Figura 2.2: Tipos de betacianinas.

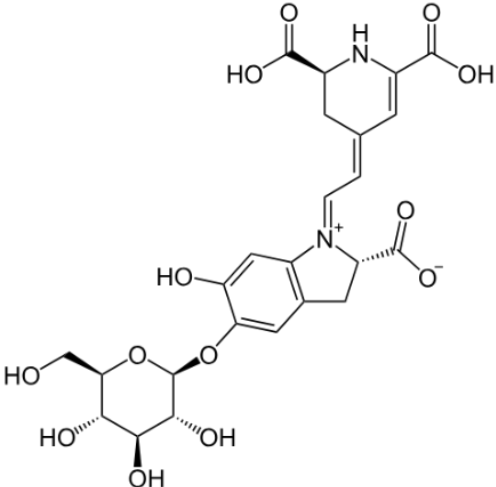
2.5 Composición fisicoquímica de las betalaínas

Las betalaínas, sobre todo en forma de extractos concentrados o liofilizados de raíz de remolacha roja, se utilizan en la industria alimentaria para modificar el color de una amplia variedad de productos, Corresponden a los aditivos denominados E-162. Los encontramos en yogures, cremas o helados, pero también en salchichas y jamones cocidos, pasando por galletas, dulces y zumos. Asimismo, se han desarrollado nuevos usos de los frutos comestibles del cactus *Opuntia ficus indica*, higo chumbo, sobre todo porque evitan el sabor térreo que presentan los extractos de remolacha debido a la presencia de *geosminas* (compuestos que producen ciertos microorganismos del suelo) (Shoukat et al, 2023).

En el cuadro 2.1 se muestran las propiedades fisicoquímicas de las betalaínas:

Cuadro 2.1

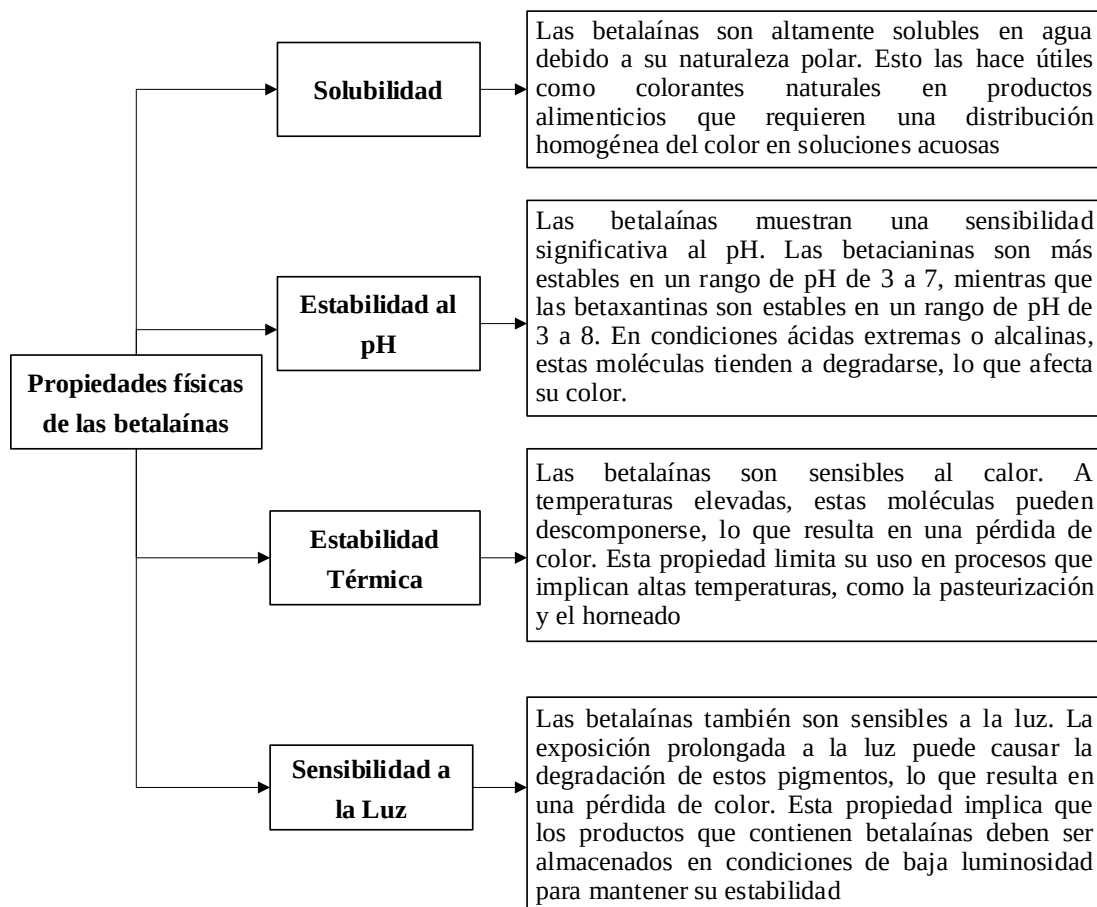
Propiedades fisicoquímicas de las betalainas

Propiedades	Descripción
Nombre químico	(2S)-1-{2-[(2S)-2,6-dicarboxi-2,3-dihidropiridin-4(1H)-ilideno]etilenil}-5-(β-d-glucopiranosilo)-6-hidroxi-2,3-dihidro-1H-indol-1-ilo-2-carboxilato
Fórmula química	C ₂₄ H ₂₆ N ₂ O ₁₃ Masa molar: 550,47 g/mol
Fórmula estructural	
Peso	Varía entre 300 y 600 g/mol, dependiendo del tipo de betalaina
Estabilidad térmica	Las altas temperaturas (> 60 °C) provocan su degradación.
Color	Las betacianinas son rojo-violeta y las betaxantinas, amarillo - anaranjado.
Solubilidad	Las betalainas son altamente solubles en agua, pero insolubles en solventes orgánicos no polares.
Estabilidad del pH	Son más estables en pH ácido (4-5), y se degradan en condiciones alcalinas.
Contenido en remolacha	Entre 200 y 2 100 mg de betalainas por kg de peso fresco de remolacha
Espectrofotometría	UV-Vis: $\lambda_{\text{max}} = 533 \text{ nm}$ (en agua) Extinción molar: $\epsilon \approx 60\,000 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ Espectroscopia transitoria: bandas excitadas $S_1 \rightarrow S_n$ a $\sim 450 \text{ nm}$ y $\sim 1220 \text{ nm}$ (en agua y alcohol)

Fuente: FAO, 2002

2.6 Propiedades físicas de las betalaínas

En la Figura 2.3, se muestra las propiedades físicas de las betalaínas:

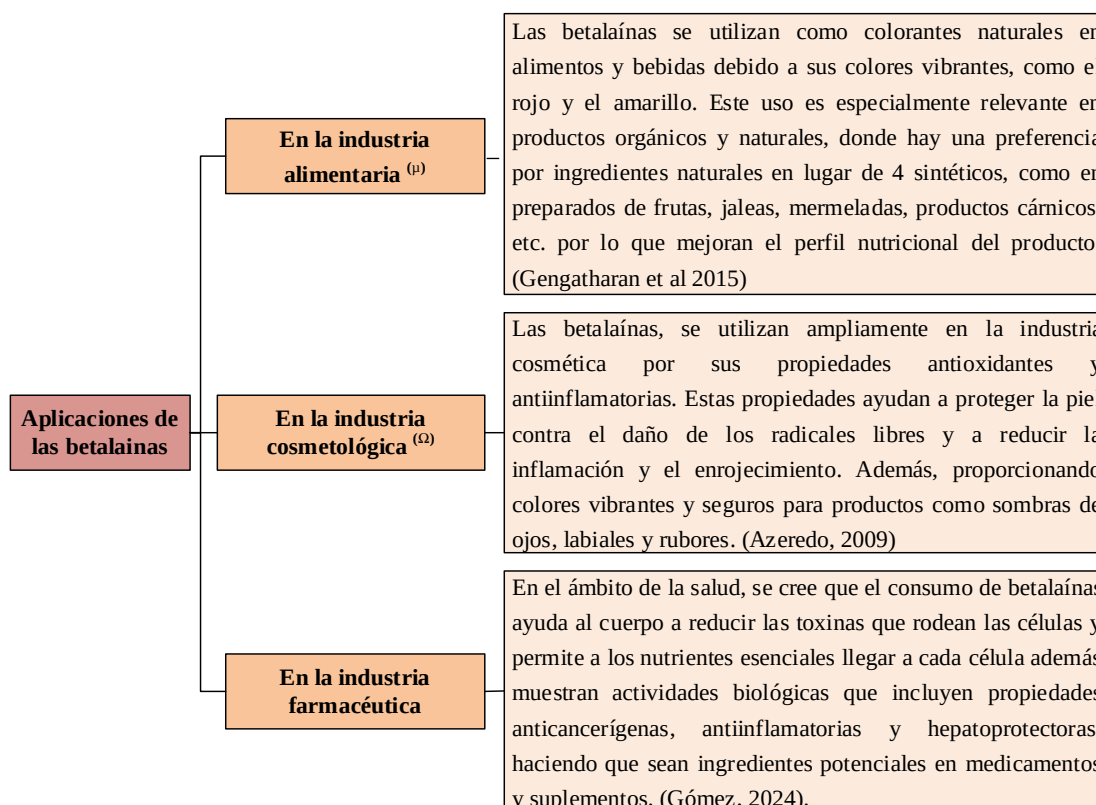


Fuente: Gandia et al, 2013

Figura 2.3: Propiedades físicas de las betalaínas.

2.7 Aplicaciones de las betalaínas

En la Figura 2.4 se muestran las diversas aplicaciones gracias a sus propiedades funcionales y beneficiosas para la salud, como en la industria alimentaria, industria cosmetológica y la industria farmacéutica.



Fuente: Gengatharan et al, 2015^(μ); (Azeredo, 2009) ^(Ω); Gomez, 2024.

Figura 2.4: Aplicaciones de las betalainas.

2.8 Beneficios del consumo de las betalainas y sus efectos en la salud del ser humano

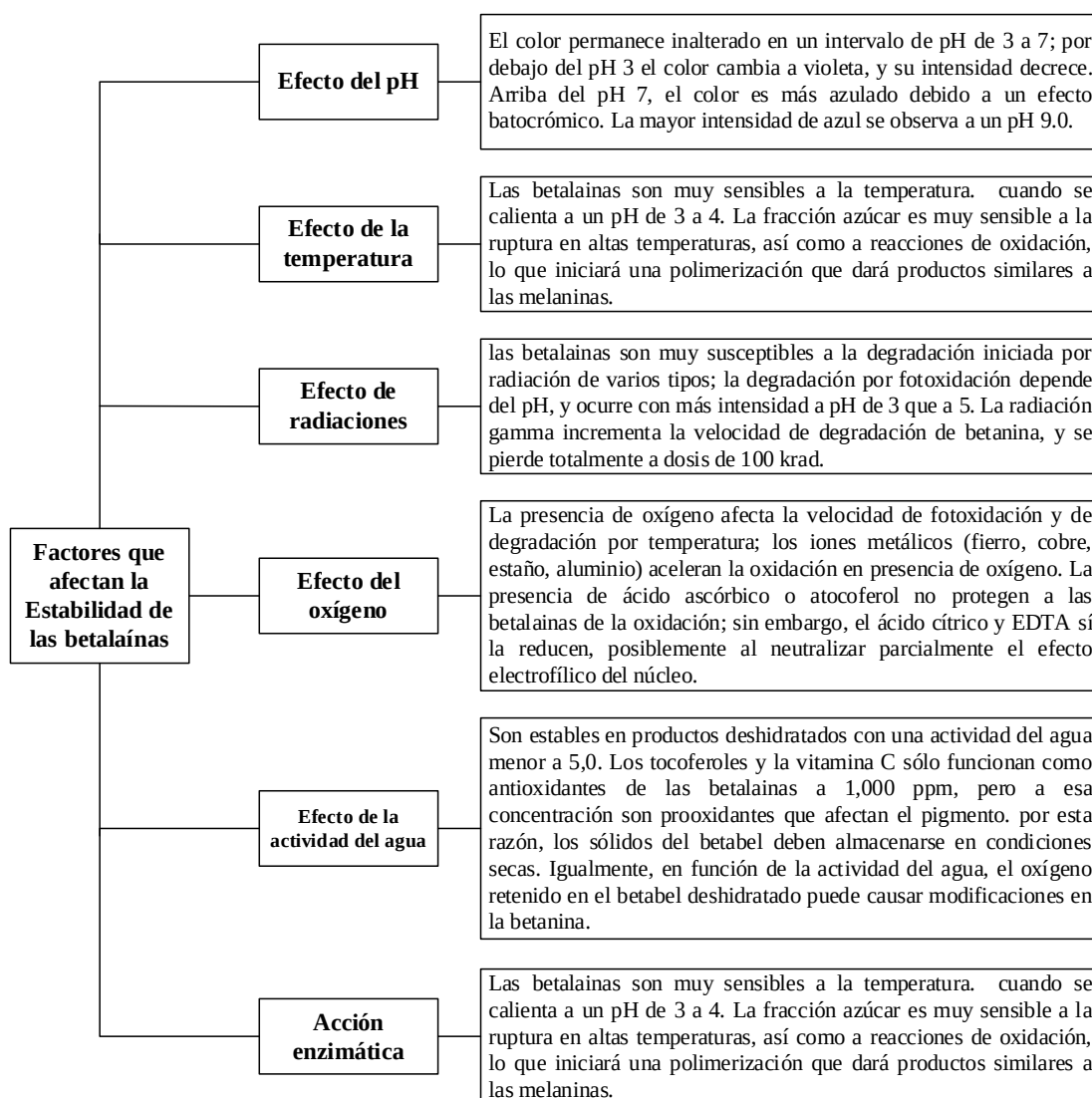
Las betalainas han sido ampliamente estudiadas por sus propiedades de promoción de la salud, incluyendo actividades anticancerígenas, hipolipidémicas, hepatoprotectoras, antiinflamatorias y antidiabéticas. Estas actividades se deben a la capacidad de las betalainas para actuar como antioxidantes y regular diversas rutas bioquímicas en el cuerpo humano. (Madadi et al, 2020).

Las betalainas, como las betacianinas y la betanina, exhiben una alta actividad antirradical y antioxidante, protegiendo las células del daño oxidativo al neutralizar radicales libres. Además, estas sustancias contribuyen a la eliminación del ácido hipocloroso, un compuesto asociado con la inflamación. Se ha comprobado que dosis reducidas de betanina son suficientes para integrarse en lipoproteínas de baja densidad

(LDL) y glóbulos rojos, ofreciendo protección contra el daño oxidativo y la hemólisis. (Gandía et al, 2011).

2.9 Factores que afectan la estabilidad de las betalaínas

En la Figura 2.5, se muestra los factores que afectan la estabilidad de las betalaínas:

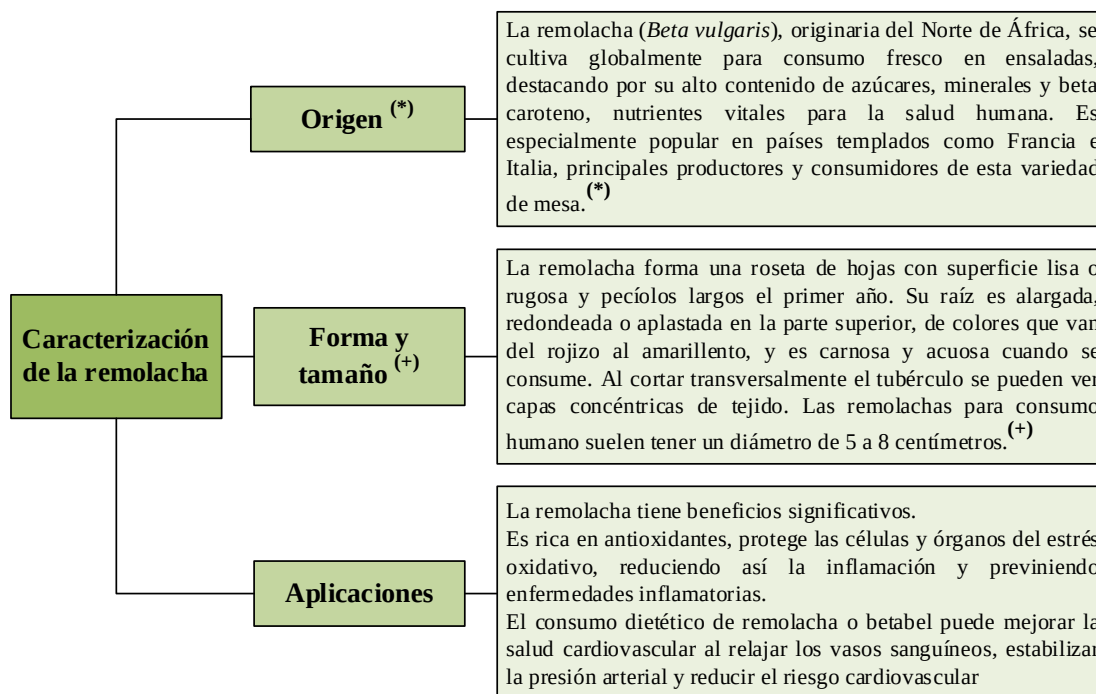


Fuente: Badui, 2006

Figura 2.5: Factores que afectan la estabilidad de las betalaínas.

2.10 Caracterización de la remolacha (*Beta vulgaris*)

En la Figura 2.6 se muestran la caracterización de la remolacha, en cuanto a su origen, forma, tamaño y aplicaciones.



Fuente: Terranova, 2014^(B); Joomia, 2021^(A); Muguira, 2015.

Figura 2.6: Caracterización de la remolacha (*Beta vulgaris*).

2.10.1 Clasificación taxonómica de la remolacha (*Beta vulgaris*)

En la Tabla 2.1 se muestra la clasificación taxonómica de la remolacha (*Beta vulgaris*).

Tabla 2.1

Clasificación taxonómica de la remolacha (*Beta vulgaris*)

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Caryophyllales
Familia	Amaranthaceae
Subfamilia	Chenopodiaceae
Genero	Beta
Nombre común	Remolacha
Nombre científico	<i>Beta vulgaris</i>

Fuente: UDSA, 2023

2.10.2 Composición fisicoquímica de la remolacha (*Beta vulgaris*)

En la Tabla 2.2 se muestra la composición fisicoquímica de la remolacha en 100 gramos.

Tabla 2.2

*Composición fisicoquímica de la remolacha (*Beta vulgaris*)*

Compuesto	Unidades	Valor
Calorías	Kcal	58,00
Carbohidratos	g	13,00
Azúcar	g	9,19
Fibra	g	3,80
Proteínas	g	2,19
Grasas	g	0,23
Grasas poliinsaturadas	g	0,08
Grasas monoinsaturadas	g	0,04
Grasas saturadas	g	0,04
Minerales		
Potasio	mg	442,00
Sodio	mg	106,00
Fosforo	mg	54,00
Magnesio	mg	31,00
Calcio	mg	22,00
Hierro	mg	1,09
Zinc	mg	0,48
Vitaminas		
Vitamina A	mg	45,00
Vitamina C	mg	6,700

Fuente: Cabrera, 2018

2.11 Caracterización de los insumos utilizados en la extracción de betalainas

A continuación, se detallan los insumos necesarios para la extracción de betalainas de remolacha:

2.11.1 Agua ultrapura

El agua ultrapura es aquella que ha sido tratada para eliminar prácticamente todas las impurezas químicas (iones, materia orgánica, dióxido de carbono, etc.) y biológicas

(microorganismos, endotoxinas, etc.), alcanzando niveles extremadamente bajos de conductividad ($< 0,056 \mu\text{S}/\text{cm}$) y una resistividad teórica de $18,2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ a 25°C . Se utiliza principalmente en laboratorios analíticos, farmacéuticos, en electrónica de semiconductores y en cultivos celulares donde la más mínima contaminación puede afectar los resultados (ASTM, 2021).

2.11.2 Aplicación del agua ultrapura

En el cuadro 2.2 se muestra las aplicaciones del agua ultrapura:

Cuadro 2.2

<i>Aplicaciones del agua ultrapura</i>		
Aplicación	Descripción	Industria
Limpieza de microchips	Se usa para enjuagar y limpiar circuitos integrados, evitando contaminación iónica y partículas.	Semiconductores / Electrónica
Preparación de medicamentos	Garantiza soluciones libres de contaminantes para inyectables y equipos estériles.	Farmacéutica / Medicina
Análisis químico de alta precisión	Evita interferencias en espectrometría de masas, cromatografía y biología molecular.	Laboratorios de investigación
Agua de alimentación en calderas	Reduce corrosión e incrustaciones en turbinas y sistemas de energía.	Generación de energía
Cultivo celular	Proporciona medios libres de microorganismos y compuestos que alteren resultados.	Biotecnología
Control de calidad	Asegura precisión en pruebas químicas y biológicas, evitando contaminaciones.	Alimentaria / Control industrial

Fuente: ASTM, 2021

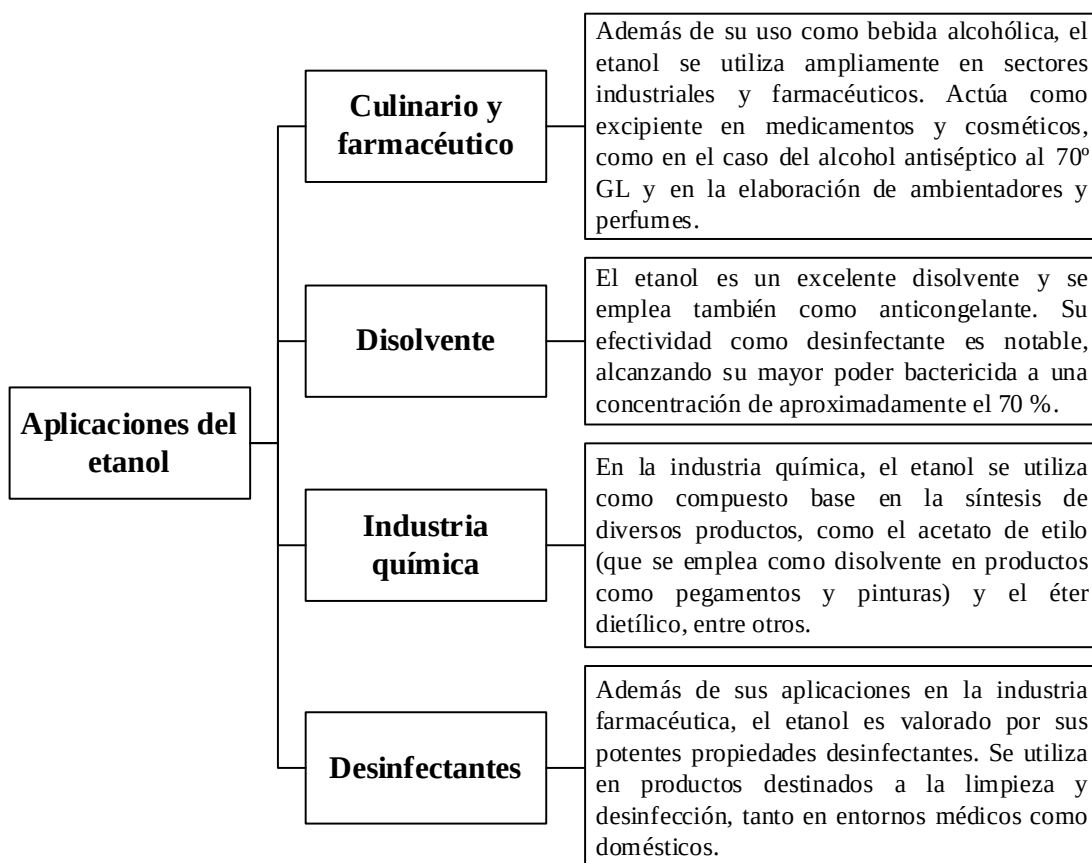
2.11.3 Etanol

El compuesto químico etanol, conocido como alcohol etílico, es un alcohol que se presenta en condiciones normales de presión y temperatura como un líquido incoloro e inflamable con un punto de ebullición de 78°C y punto de fusión de $-114,1^\circ\text{C}$, a nivel del mar. Es altamente inflamable, soluble en agua en cualquier proporción, reacciona

violentamente con oxidantes fuertes y lentamente con hipoclorito cálcico, óxido de plata y amoníaco (González, 2021).

2.11.4 Aplicaciones del etanol

En la Figura 2.7 se muestra las aplicaciones del etanol.



Fuente: González, 2021

Figura 2.7: Aplicaciones del etanol.

2.11.5 Ácido cítrico

El ácido cítrico es un ácido orgánico débil, ampliamente utilizado en diversos procesos industriales y de laboratorio, especialmente como acondicionador de pH en la extracción de compuestos vegetales. En el caso específico de las betalaínas, este compuesto juega un papel crucial en la optimización de la acidez del medio, manteniendo el pH en un rango entre 3 y 5. Este rango ácido favorece la estabilidad de las betalaínas, mejorando la eficiencia del proceso de extracción al reducir la

posibilidad de degradación enzimática y química, factores que pueden afectar negativamente la calidad y cantidad de los pigmentos obtenidos.

Además de sus beneficios en la extracción, el ácido cítrico es una alternativa más segura y ecológica en comparación con otros ácidos o solventes orgánicos, como el metanol o el etanol, que son inflamables y pueden presentar riesgos ambientales y de salud. Siendo un compuesto biodegradable y no inflamable, el ácido cítrico ofrece una opción más respetuosa con el medio ambiente, lo que lo convierte en un aditivo popular en la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica. Su uso en la extracción de betalaínas no solo mejora el rendimiento del proceso, sino que también garantiza la seguridad tanto en su manejo como en su impacto ambiental (Kumar & Oruna, 2023).

2.11.6 Aplicaciones del ácido cítrico

El ácido cítrico es un compuesto orgánico ampliamente utilizado en diversas industrias debido a su carácter ácido, quelante y antioxidante. En la industria alimentaria se emplea como acidulante, conservante, regulador de pH y antioxidante en bebidas, gelatinas, productos enlatados y confitería. En la industria farmacéutica se utiliza como estabilizador de medicamentos, excipiente y agente efervescente. En cosmética y en productos de limpieza actúa como quelante de metales, ajustador de pH y agente limpiador biodegradable. Asimismo, en aplicaciones científicas el ácido cítrico se emplea para estabilizar compuestos sensibles, extraer pigmentos naturales y mejorar la biodisponibilidad de minerales (Yadav et al., 2022).

2.12 Descripción del método a ser utilizado en la extracción por solvente (etanol y agua) de las betalaínas de remolacha

La extracción de betalaínas de remolacha utilizando una combinación de etanol y agua es un proceso fundamental en la obtención de estos pigmentos naturales de manera eficiente y rentable. Este método se basa en las propiedades solventes del etanol y el agua, que son capaces de disolver las betalaínas presentes en la remolacha, compuestos responsables del color rojo y amarillo característico de la planta. La técnica comienza con la maceración de la remolacha, ya sea en trozos o en polvo, en una solución de

etanol y agua en proporciones adecuadas, lo que permite que los pigmentos se liberen del material vegetal. Posteriormente, se lleva a cabo una etapa de filtración para separar el extracto líquido que contiene las betalainas del material vegetal sólido, garantizando la purificación del extracto. Este proceso no solo optimiza la recuperación de los pigmentos, sino que también preserva sus propiedades antioxidantes y funcionales, lo que hace que la extracción sea una técnica ampliamente utilizada en la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica (Gandía & García, 2013).

En el cuadro 2.3 se presentan los diferentes tipos de métodos de extracción por maceración aplicados a las betalainas, detallando sus características, ventajas y desventajas:

Cuadro 2.3

Métodos de extracción por maceración aplicados a betalainas

Tipo de maceración	Descripción	Ventajas	Desventajas
Maceración simple	Contacto directo entre la remolacha triturada y el solvente (agua, etanol-agua) a temperatura ambiente.	Bajo costo, fácil implementación.	Bajo rendimiento, tiempo prolongado, riesgo de oxidación.
Maceración dinámica	Agitación mecánica o magnética durante la maceración.	Mejora la extracción, reduce el tiempo.	Posible degradación si se prolonga o calienta.
Maceración con calor moderado	Se aplica temperatura controlada (30–50 °C) durante la maceración.	Aumenta la solubilidad y velocidad de extracción.	Las betalainas son sensibles al calor (>60 °C).
Maceración asistida por ultrasonido (UAE)	Uso de ondas ultrasónicas para facilitar la ruptura celular.	Alta eficiencia, menor tiempo, protege compuestos termosensibles.	Requiere equipo especializado (baño o sonda ultrasónica).
Maceración por microondas (MAE)	Aplicación de microondas a baja potencia para facilitar la liberación de compuestos.	Muy rápida, buena eficiencia.	Posible degradación térmica si no se controla adecuadamente.

Fuente: Azeredo, 2009

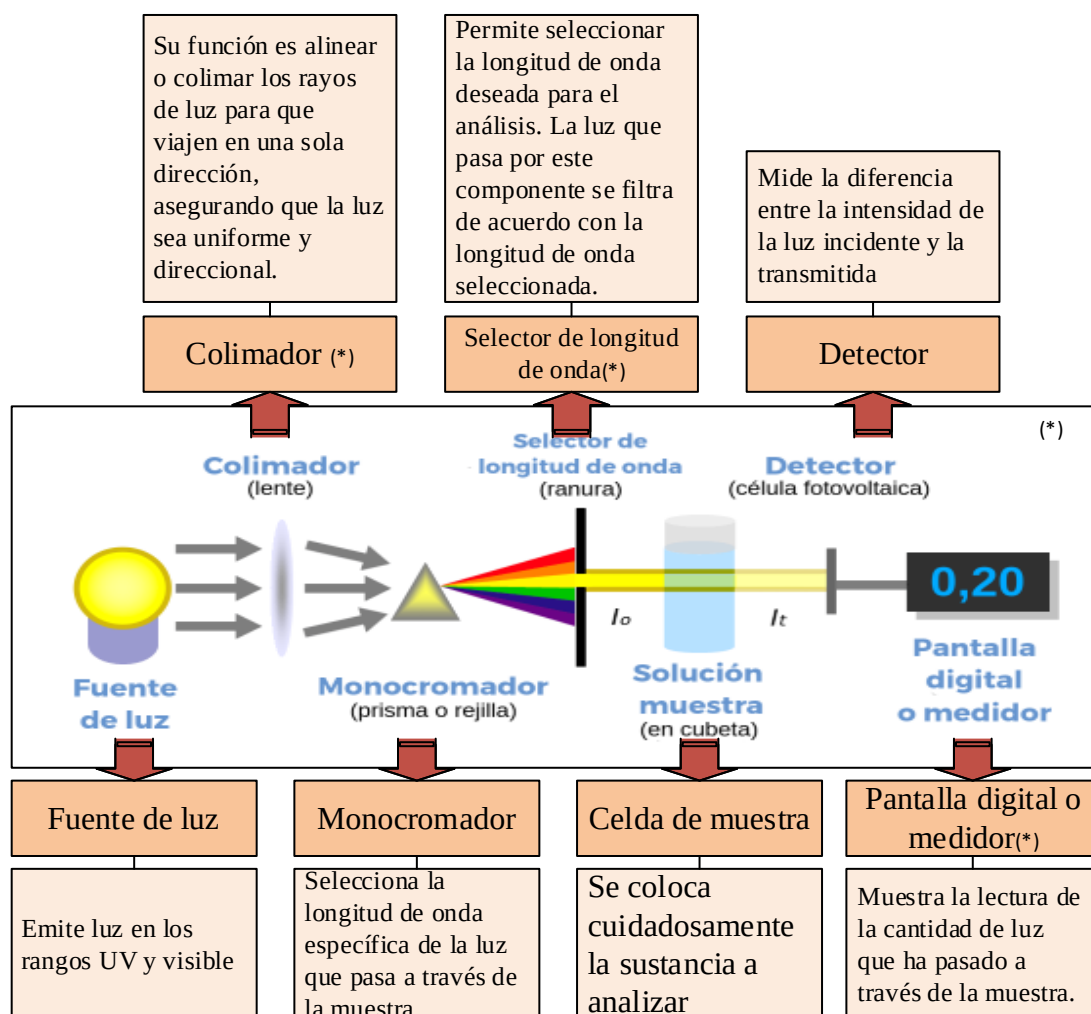
2.13 Espectrofotometría UV-Vis (Ultravioleta-Visible)

La espectrofotometría es una técnica analítica que mide la cantidad de luz absorbida por una sustancia en función de la longitud de onda. Esta técnica se basa en la interacción de la radiación electromagnética con la materia, donde la cantidad de luz absorbida es proporcional a la concentración del compuesto analizado en la muestra. Es especialmente útil para la identificación y cuantificación de compuestos con grupos cromóforos, como las betalaínas, mediante análisis en la región ultravioleta y visible del espectro (UV-Vis) (Skoog et al, 2017).

2.13.1 Principio de funcionamiento de la espectrofotometría UV-Visible

La espectrofotometría UV-Visible es una técnica analítica basada en la interacción de la luz con la materia, específicamente en la capacidad de ciertos compuestos de absorber radiación electromagnética en las regiones ultravioleta (UV) y visible (VIS) del espectro. Esta absorción depende de la presencia de grupos cromóforos en las moléculas, los cuales permiten transiciones electrónicas entre niveles de energía. El estudio de esta interacción óptica permite identificar y cuantificar compuestos como las betalaínas, mediante la medición de la absorbancia en longitudes de onda específicas. Para comprender cómo se relaciona la absorbancia con la concentración del analito, es necesario introducir la Ley de Beer-Lambert, que constituye el fundamento matemático de esta técnica (Agilent Technologies, 2020).

En la Figura 2.8 se muestran los componentes esenciales del espectrofotómetro UV-Visible, que se componen de cuatro partes clave. Esta medición permite obtener un espectro de absorbancia, lo que es crucial para identificar y cuantificar diferentes compuestos en la muestra (Karuppaiah & Krishnan, 2022).



Fuente: Karuppaiah & Krishnan, 2022; Labster, 2025^(*)

Figura 2.8: Elementos del espectrofotómetro UV-Visible.

Donde:

I_0 : Es la intensidad de la luz antes de pasar a través de la muestra (luz incidente).

I_t : Es la intensidad de la luz después de haber pasado a través de la muestra (luz transmitida).

2.13.2 Ley de Beer - Lambert

La Ley de Beer-Lambert establece que la absorbancia de una sustancia en solución es directamente proporcional a su concentración y a la longitud del camino óptico que atraviesa la luz. Esta relación permite cuantificar compuestos en función de la luz

absorbida por sus cromóforos, lo que es fundamental en espectrofotometría UV - Visible.

La ecuación que representa esta ley es:

$$A = \varepsilon \times c \times l$$
Ecuación 2.1

Donde:

A : Absorbancia (sin unidades)

ε : Coeficiente de absorción molar ($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$)

c : Concentración del soluto en la solución (mol/L)

l : Longitud del camino óptico (cm)

Esta ecuación indica que, bajo condiciones constantes de ε y l, la absorbancia es directamente proporcional a la concentración del extracto. Por ello, se utiliza para construir curvas de calibración que permiten determinar concentraciones desconocidas a partir de mediciones espectrofotométricas (Skoog & Crouch, 2017).

2.13.3 Absorbancia

Absorbancia es la medida de la cantidad de luz que una sustancia o muestra absorbe cuando un haz de luz la atraviesa. Se expresa como el logaritmo decimal inverso de la transmitancia, es decir, la relación entre la intensidad de la luz incidente y la luz transmitida. La absorbancia es fundamental en técnicas espectrofotométricas para cuantificar la concentración de compuestos en solución, siguiendo la ley de Beer-Lambert (Skoog & Crouch, 2017).

Su fórmula es:

$$A = -\log_{10}(T)$$
Ecuación 2.2

Donde:

A : Absorbancia (sin unidades).

T : Transmitancia (relación de la luz transmitida sobre la luz incidente).

2.13.4 Transmitancia

Transmitancia es la proporción de la intensidad de la luz que atraviesa una muestra respecto a la intensidad de la luz incidente sobre ella. Se expresa comúnmente como un porcentaje o fracción, y es inversamente proporcional a la absorbancia. En espectrofotometría, la transmitancia permite evaluar la cantidad de luz que no es absorbida por el material y atraviesa la muestra (Skoog & Crouch, 2017).

$$\%T = \frac{1}{10^{Abs}} \times 100 \quad \text{Ecuación 2.3}$$

Donde:

Abs : Absorbancia de la muestra

%T : Porcentaje de transmitancia

2.13.5 Rango espectral aplicado en análisis de colorantes

El análisis de colorantes mediante espectrofotometría UV-Visible se basa en la medición precisa de la absorbancia en las regiones del espectro electromagnético comprendidas entre 190 y 700 nm. La región ultravioleta (UV) cubre aproximadamente de 190 a 400 nm, mientras que la región visible (VIS) va de 400 a 700 nm. Los colorantes naturales, como las betalainas, generalmente presentan máximos de absorbancia dentro del espectro visible, lo cual permite su caracterización y análisis en función de su color específico. La elección de la longitud de onda adecuada es fundamental, ya que garantiza que la medición se realice en el punto de máxima absorción ($\lambda_{\text{máx}}$), optimizando así la sensibilidad y precisión del análisis. Además, factores como el pH, la temperatura y el tipo de disolvente pueden modificar el espectro de absorción de los colorantes, por lo que es importante controlar cuidadosamente las condiciones experimentales (Verma, 2018).

1.13.6 Relación entre absorbancia y color percibido

La relación entre absorbancia y el color percibido se basa en el principio de que una sustancia absorbe ciertas longitudes de onda de la luz visible y transmite o refleja las

restantes, lo cual determina el color que vemos. El color observado es el complementario del color absorbido; por ejemplo, si un compuesto absorbe luz en el rango de 500 – 520 nm (verde), el color que se percibirá será rojo. Esta relación es clave en la espectrofotometría, ya que permite identificar y cuantificar compuestos coloreados midiendo la absorbancia en su longitud de onda máxima ($\lambda_{\text{máx}}$).

El grado de absorbancia depende de la concentración del compuesto, la longitud del camino óptico y la naturaleza del cromóforo, según lo establece la ley de Beer-Lambert. Esta técnica es fundamental en el análisis de pigmentos naturales como las betalaínas, ya que permite evaluar su estabilidad y pureza mediante su comportamiento espectral (Verma, 2018).

2.13.7 Longitudes de onda y percepción del color

La percepción del color está directamente relacionada con las longitudes de onda de la luz visible que no son absorbidas por una sustancia, sino reflejadas o transmitidas hacia nuestros ojos. La luz visible se encuentra en el espectro electromagnético entre aproximadamente 390 y 780 nanómetros (nm). Las longitudes de onda más cortas (390–435 nm) se perciben como violeta, seguidas por el azul (435–490 nm), verde (490–580 nm), amarillo (580–595 nm), naranja (595–650 nm) y rojo (650–780 nm). Cuando un compuesto absorbe luz en una de estas regiones, el color observado corresponde al color complementario del absorbido. Esta propiedad es aprovechada en la espectrofotometría UV-Visible para identificar compuestos y estudiar pigmentos naturales como las betalaínas, cuya absorbancia específica se vincula directamente con su coloración visual (Verma, 2018).

CAPÍTULO III
METODOLOGÍA
EXPERIMENTAL

3.1 Desarrollo de la parte experimental

El presente trabajo experimental de extracción de betalaínas de remolacha, se desarrolló en el Laboratorio Académico de la Carrera de Ingeniería de Alimentos (L.A.C.I.A), dependiente de la Facultad de Ciencia y Tecnología y en el Laboratorio de Suelos de la Facultad de Ciencias Agrícolas y Forestales de la Universidad Autónoma "Juan Misael Saracho".

3.2 Tipo de Intervención experimental

El presente trabajo tiene los siguientes componentes que serán desarrollados a continuación:

- Análisis fisicoquímico y microbiológico de la remolacha (*Beta bulgaris*).
- Análisis del rendimiento de betalaínas por espectrofotometría UV-Vis.
- Análisis del diseño experimental 2³ en el extracto de betalaínas.
- Análisis de varianza (ANOVA) del diseño factorial en el rendimiento del extracto de betalaínas.
- Operacionalización de las variables independiente y dependiente en la extracción de betalaínas de remolacha.

3.3 Paradigma de la investigación

Un paradigma se entiende como un conjunto de creencias, valores, técnicas y suposiciones que son aceptadas por una comunidad científica y que orientan la investigación dentro de una disciplina. Se trata de "realizaciones científicas universalmente reconocidas que, durante cierto tiempo, proporcionan modelos de problemas y soluciones a una comunidad científica" (Kuhn, 1962, p. 10). En cuanto al paradigma positivista, este enfoque de investigación se basa en la premisa de que la realidad es objetiva y puede ser observada y descrita mediante métodos científicos. Este paradigma asume "una realidad única, tangible y fragmentable que puede ser

comprendida, medida y manipulada de forma objetiva" (Guba y Lincoln, 1994, p. 105), siendo esencial en la investigación cuantitativa para establecer relaciones causales a través del análisis de datos numéricos.

3.4 Paradigma positivista

El paradigma positivista plantea que la realidad es objetiva y puede ser estudiada mediante métodos científicos que implican la observación y medición precisa de los fenómenos, sin intervención del investigador. Este enfoque privilegia el uso de técnicas cuantitativas para obtener datos verificables que permitan establecer relaciones causales y generalizaciones fiables (Bryman, 2016). Además, se fundamenta en la idea de que el conocimiento se construye a partir de la experiencia empírica y el análisis sistemático, lo que resulta fundamental para la formulación de teorías predictivas (Neuman, 2014, p. 25).

3.5 Enfoque de la investigación

La experimentación se enmarca dentro del enfoque cuantitativo y positivista de la investigación científica, distinguiéndose por la búsqueda de relaciones causales mediante la manipulación y control de variables en un entorno controlado para alcanzar mayor objetividad y replicabilidad (Sampieri et al, 2014). Este enfoque, fundamentado en el positivismo, postula que el conocimiento auténtico se adquiere a través de la experiencia empírica y la observación científica, subrayando la importancia de datos cuantificables y metodologías rigurosas. La investigación experimental cuantitativa es un proceso sistemático y empírico centrado en la medición objetiva de variables y el uso de análisis estadísticos para probar hipótesis y establecer relaciones causales, permitiendo a los investigadores observar los efectos directos de las manipulaciones en los resultados medibles (Creswell, 2014).

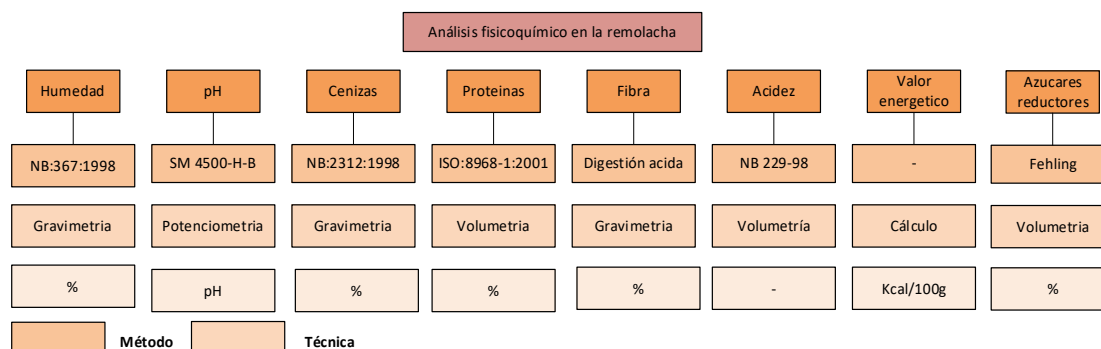
3.6 Métodos, técnicas e instrumentos

El método se define como un proceso estructurado de pasos diseñados para lograr un objetivo específico, mientras que la técnica de investigación se enfoca principalmente en la recolección y análisis de datos para validar los métodos utilizados en la

investigación. Llevar a cabo un método requiere un profundo dominio de la técnica correspondiente. En el contexto de la extracción de betalainas de remolacha, el método representa el camino para investigar, comprender y descubrir; es el procedimiento para adquirir conocimiento sobre este tema (Custodio, 2008). Los métodos y técnicas utilizados en el presente trabajo de investigación, se detallan a continuación.

3.6.1 Análisis fisicoquímico y microbiológico de remolacha

En la Figura 3.1 se muestran los métodos y técnicas específicos que serán utilizados para el análisis fisicoquímico de la remolacha. Estos análisis se realizaron en el Centro de Análisis, Investigación y Desarrollo (CEANID), perteneciente a la Facultad de Ciencias y Tecnología, dependiente de la Universidad Autónoma "Juan Misael Saracho" Tarija – Bolivia.

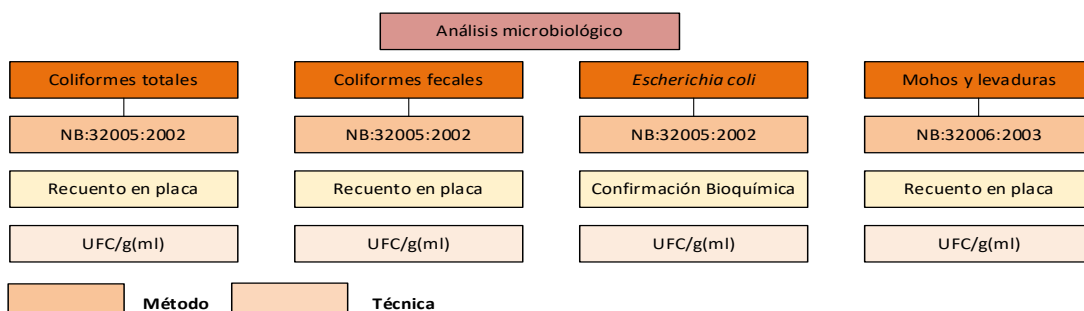


Fuente: CEANID, 2024

Figura 3.1: Métodos y técnicas para determinar los análisis fisicoquímicos de la remolacha

3.6.2 Análisis microbiológico de remolacha

En la Figura 3.2 se presentan los métodos y técnicas específicos utilizados para el análisis microbiológico de la remolacha. Estos análisis fueron realizados en el Centro de Análisis, Investigación y Desarrollo (CEANID), perteneciente a la Facultad de Ciencias y Tecnología, dependiente de la Universidad Autónoma "Juan Misael Saracho" Tarija – Bolivia.

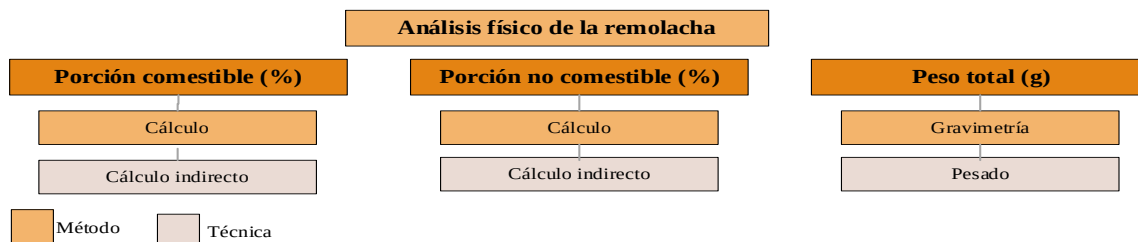


Fuente: CEANID, 2024

Figura 3.2: Métodos y técnicas para determinar los análisis microbiológicos en la remolacha.

3.6.2 Análisis físico de la remolacha

En la Figura 3.3 se muestran los métodos y técnicas que se utilizaron para determinar los análisis físicos de la remolacha (*Beta vulgaris*), realizados en el Laboratorio Académico de la Carrera de Ingeniería de Alimentos (LACIA), perteneciente a la Facultad de Ciencias y Tecnología de la Universidad Autónoma “Juan Misael Saracho” Tarija – Bolivia.



Fuente: LACIA, 2024

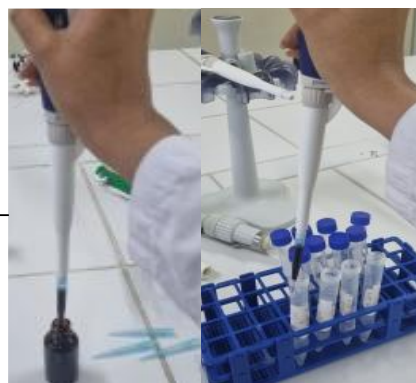
Figura 3.3: Métodos y técnicas para determinar los análisis físicos en la remolacha.

3.6.3 Procedimiento para la determinación cuantitativa de las betalaínas

En la Figura 4.3 se muestra el procedimiento de la técnica para la determinación cuantitativa de las betalaínas a nivel de laboratorio. Este procedimiento se efectuó en el Laboratorio de Suelos de la Facultad de Ciencias Agrícolas y Forestales, de la Universidad Autónoma “Juan Misael Saracho” Tarija – Bolivia.

Preparación de disoluciones

Primero, se tomó una alícuota del extracto de remolacha y se diluyó en una proporción 1:100 (v/v) utilizando agua ultrapura como disolvente, esta dilución se agitó manualmente hasta alcanzar una homogeneidad completa. En caso de que la concentración no se encontrara dentro del rango adecuado, se procedió a tomar una nueva alícuota de la solución anterior y se diluyó nuevamente en una proporción 1:10 (v/v) con agua ultrapura.



Puesta en marcha del equipo

Se encendió el espectrofotómetro UV-Visible, permitiendo que completara su ciclo automático de calibración y estabilización térmica, conforme a las instrucciones del fabricante.



Configuración del blanco

Se cargó una celda de poliestireno de 1 cm con agua ultrapura para establecer la línea base. Esta celda se utilizó como blanco para corregir posibles interferencias ópticas.

Selección de la longitud de onda

Se seleccionó una longitud de onda de 515 nm para la medición de absorbancia, basada en la máxima absorción de las betalaínas en el extracto de remolacha.



Preparación de la celda de muestra

Antes de cada lectura, se enjuagó la celda varias veces con el extracto que se iba a analizar, garantizando así su limpieza y la eliminación de cualquier residuo que pudiera afectar la precisión de los resultados.

Medición de absorbancia

Se vertió la muestra en la celda y se colocó en el compartimento del espectrofotómetro. Luego, se registraron las lecturas de absorbancia. Este proceso se repitió para cada muestra, asegurando el enjuague de la celda entre mediciones para evitar contaminaciones cruzadas.



Fuente: Elaboración propia

Figura 3.4: Técnica de análisis cuantitativo de betalaínas en el espectrofotómetro

3.7 Equipos, instrumentos, materiales de laboratorio y utensilios

Para el desarrollo de la parte experimental del presente trabajo, se utilizaron diversos equipos e instrumentos del Laboratorio Académico de la Carrera de Ingeniería de Alimentos (LACIA) y del Laboratorio de Suelos de la Facultad de Ciencias Agrícolas y Forestales (LSAF), así como materiales y utensilios de cocina, los cuales se describen a continuación:

3.7.1 Equipos de laboratorio

Los equipos de laboratorio utilizados durante la extracción de betalaínas de remolacha se detallan a continuación:

✓ Baño María

Este equipo se utilizó para concentrar el extracto mediante la evaporación del alcohol. Las especificaciones técnicas del baño María se muestran en la Figura 3.5.

Baño María	Especificaciones técnicas
Marca: Nahita Modelo: Model 601 Capacidad: 12 L Potencia: 1000 W Corriente alterna: 220V - 50Hz Industria: China	

Fuente: LACIA, 2025

Figura 3.5: Especificaciones técnicas del baño María

✓ Centrífuga

En la Figura 3.6 se muestran las especificaciones técnicas de la centrífuga utilizada para purificar el extracto.

Centrifuga	Especificaciones técnicas
Marca: HETTICH - BOECO Modelo: U - 320 Velocidad: 15,000 rpm Dimensiones: 260 x 275 x 344 ml Peso neto: 11,5 kg Industria: alemana	 BOECO CENTRIFUGE U-320R

Fuente: LSAF, 2025

Figura 3.6: Especificaciones técnicas de la centrífuga.

✓ Espectrofotómetro-UV

En la Figura 3.7 se muestran las especificaciones técnicas del espectrofotómetro-UV utilizado en el presente trabajo de investigación, para determinar el rendimiento del extracto concentrado de betalaínas.

Espectrofotómetro	Especificaciones técnicas
Marca: Agilent Technologies Modelo: CARY 60 Ancho de banda espectral: 1,5 nm Rango de longitud de onda: 190 1100 nm Exactitud de longitud de onda: $\pm - 0,5$ nm Reproducibilidad de onda: $\pm -0,1$ nm Energía: 220V	

Fuente: LSAF, 2025

Figura 3.7: Especificaciones técnicas del espectrofotómetro-UV.

3.7.2. Instrumentos de laboratorio

Los instrumentos de laboratorio utilizados para la extracción de betalaínas de remolacha del presente trabajo de investigación, se detallan a continuación:

✓ Balanza analítica digital

En la Figura 3.8 se presentan las especificaciones técnicas de la balanza analítica digital utilizada para pesar las cantidades de las muestras. A continuación, se detallan sus especificaciones.

Balanza analítica	Especificaciones técnicas
Marca: Selecta Capacidad: 220 g Dimensiones (mm) : 210 x 333 x 335 Sensibilidad: 0,01 g Rango de tara: - 220 g Temperatura de trabajo: 10 – 40 °C Energía: 220V	

Fuente: LACIA, 2025

Figura 3.8: Especificaciones técnicas de la balanza analítica

✓ Picadora eléctrica

En la Figura 3.9 se detallan las especificaciones técnicas de la picadora eléctrica, instrumento que fue utilizado para picar la remolacha, facilitando así una mejor extracción de betalainas.

✓ Picadora eléctrica	Especificaciones técnicas
Modelo: Sk - 768 - 4 Velocidad: 1400rpm Peso: 2 Kg Capacidad: 1 kg Potencia: 100 W Energía: 220V-240V	

Fuente: LACIA, 2025

Figura 3.9: Especificaciones técnicas de picadora eléctrica.

✓ pH-metro digital

En la Figura 3.10 se detallan las especificaciones técnicas del pH-metro, instrumento que fue utilizado para medir el pH los solventes para la extracción de betalaínas de remolacha en el presente trabajo de investigación:

pH-metro	Especificaciones técnicas
Marca: LAQUA PH 1300 Rango: -2000 – 2000 pH Exactitud: $\pm 0,003$ Puntos de calibración: hasta 5 Operación: Manual Energía: 100 - 240V Frecuencia: 50 / 60 Hz	

Fuente: LSAF, 2025

Figura 3.10: Especificaciones técnicas del pH-metro digital.

✓ Bureta semiautomática

En la Figura 3.11 se detallan las especificaciones técnicas de la bureta semiautomática, la cual fue utilizada para medir los volúmenes de agua y etanol en la preparación de soluciones cuyos detalles se presentan a continuación:

Bureta semiautomática	Especificaciones técnicas
Marca: OPUS Sensibilidad: 0,01 ml Capacidad: 50 ml Dimensiones: 55 x 130 x 110 mm Peso: 230 g	

Fuente: LSAF, 2025

Figura 3.11: Especificaciones técnicas de la bureta semiautomática.

✓ Micropipeta semiautomática

En la Figura 3.12 se detallan las especificaciones técnicas de la micropipeta semiautomática, la cual fue utilizada para medir volúmenes más precisos en la preparación de las diluciones de los extractos concentrados de betalainas, cuyos detalles se presentan a continuación:

Micropipeta semiautomática	Especificaciones técnicas
Marca: COMECTA Precisión: $\pm 0,3 \%$ Incremento: $1 \mu\text{l}$ Rango: $100 - 1000 \mu\text{l}$ Operación: Manual Industria: alemana Exactitud: $0,7 \%$	

Fuente: LSAF, 2025

Figura 3.12: Especificaciones técnicas de la micropipeta semiautomática

3.7.3. Material de laboratorio

Los materiales de laboratorio que se utilizaron en el presente trabajo de investigación, se detallan en la tabla 3.1:

Tabla 3.1

<i>Material de laboratorio</i>			
Materiales	Cantidad	Capacidad	Tipo
Vasos de Precipitado	4	600 ml	Vidrio
Probeta	1	100 ml	Vidrio
Matraz aforado	4	1000 ml	Vidrio
Matraz aforado	1	100 ml	Vidrio
Embudo	2	250 ml	Plástico
Embudo	1	50 ml	Vidrio
Piseta	1	500 ml	Plástico
Termómetro de alcohol	1	100 °C	Vidrio
Tubos de ensayo con tapa	8	200 ml	Plástico
Gradilla	1	12 tubos	Plástico
Espátula	1	mediana	Acero inoxidable

Fuente: Elaboración propia

3.6.4 Utensilios de cocina

Los utensilios de cocina que fueron utilizados en la realización del presente trabajo de investigación, se detallan en la Tabla 3.2:

Tabla 3.2

<i>Utensilios de cocina</i>			
Materiales	Cantidad	Tamaño	Tipo
Cuchillo	1	Mediano	Acero inoxidable
Tabla de cortar	1	Mediano	Plástico
Colador o tamiz fino	1	Mediano	Plástico
Fuente	1	Mediano	Acero inoxidable
Bol	1	Mediano	Plástico
Cuchara	1	Mediano	Acero inoxidable

Fuente: Elaboración propia

3.6.5. Reactivos de uso alimentario

En la Tabla 3.3, se muestran los reactivos de uso alimentario utilizados en el presente Trabajo de Investigación, los cuales se detallan a continuación:

Tabla 3.3

<i>Reactivos de uso alimentario</i>		
Reactivos	Procedencia	Calidad (%)
Etanol	Montenegro	96,0
Ácido cítrico	Telchi	99,5

Fuente: Elaboración propia

3.7 Determinación de la longitud de onda de betalaínas

En la Figura 3.13 se muestra el procedimiento para la determinación de la longitud de onda de extracto comercial de betalaínas.

Preparación de la solución madre

Se pesaron 25 mg de extracto comercial de betalaína y se disolvieron en 100 ml de agua destilada, obteniendo una solución madre con concentración de 250 mg / L. Para los cálculos revisar (Anexo C.1).



Preparación de soluciones hijas

A partir de la solución madre, se prepararon diluciones de 10 ml, con concentraciones conocidas entre (3, 6, 9, 12, 15, 18 y 21) mg / L. Los cálculos se detallan en (Anexo C.1).



Barrido espectral

Cada dilución fue analizada mediante espectrofotometría UV-Visible, realizando un barrido espectral en el rango de 400 a 700 nm. Se registró la absorbancia de cada muestra para identificar la longitud de onda en la que se presenta el pico máximo de absorbancia ($\lambda_{\text{máx}}$), correspondiente a la mayor concentración de betalaínas.



Fuente: Elaboración propia

Figura 3.13: Determinación de la longitud de onda de betalaínas

3.8 Determinación de la curva patrón para betalaínas

En la Figura 3.14 se muestra el procedimiento para la determinación de la curva patrón de extracto comercial de betalaínas.

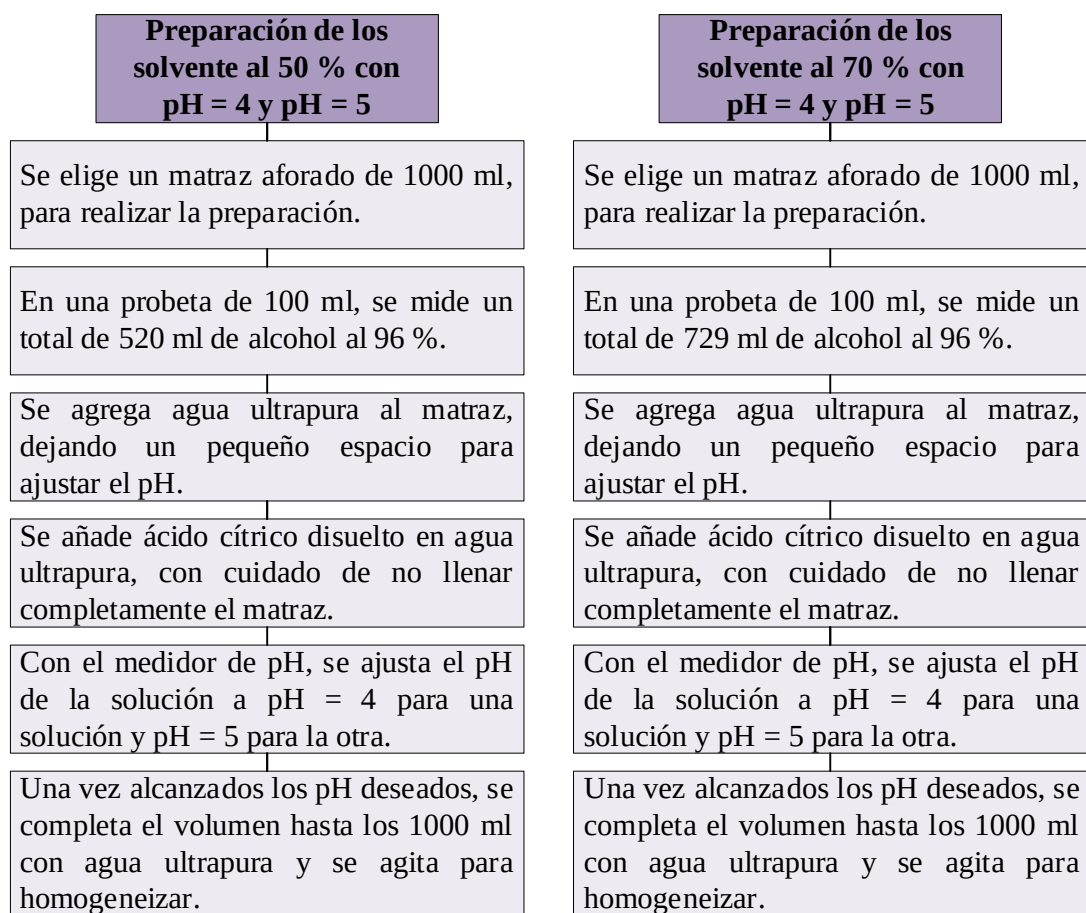
Preparación de la solución madre Se pesaron 25 mg de extracto comercial de betalaína y se disolvieron en 100 ml de agua destilada, obteniendo una solución madre con concentración de 250 mg / L. Para los cálculos revisar (Anexo C.1).	
Preparación de diluciones hijas A partir de la solución madre, se prepararon diluciones de 10 ml, con concentraciones conocidas entre (3, 6, 9, 12, 15, 18 y 21) mg / L. Los cálculos se detallan en (Anexo C.1).	
Medición de absorbancia Se midieron las diluciones hijas en el espectrofotómetro UV-Visible a 515 nm, registrando sus absorbancias. Los datos se tabularon y graficaron (absorbancia en función de la concentración), obteniéndose la ecuación de la recta y el coeficiente de correlación (R^2), proporcionado por el software, para validar la linealidad de la curva patrón.	

Fuente: Elaboración propia

Figura 3.14: Determinación de la longitud de onda de betalaínas

3.9 Preparación de las soluciones orgánicas (etanol-agua)

En la Figura 3.15 se muestra el procedimiento para la preparación de los solventes al 50 % y 70 % con pH de 4,0 y 5,0 para la extracción betalaínas de la remolacha.



Fuente: Elaboración propia

Figura 3.15: Procedimiento de la preparación de las soluciones orgánicas

3.10 Diagrama experimental para la extracción de betalaínas

En la Figura 3.16 se presenta el diagrama experimental para la extracción de betalaínas que describe el proceso de extracción de betalaínas a partir de la remolacha. Este diagrama ilustra de manera detallada cada una de las etapas involucradas en el proceso, desde la preparación inicial de la remolacha hasta la obtención final del extracto.

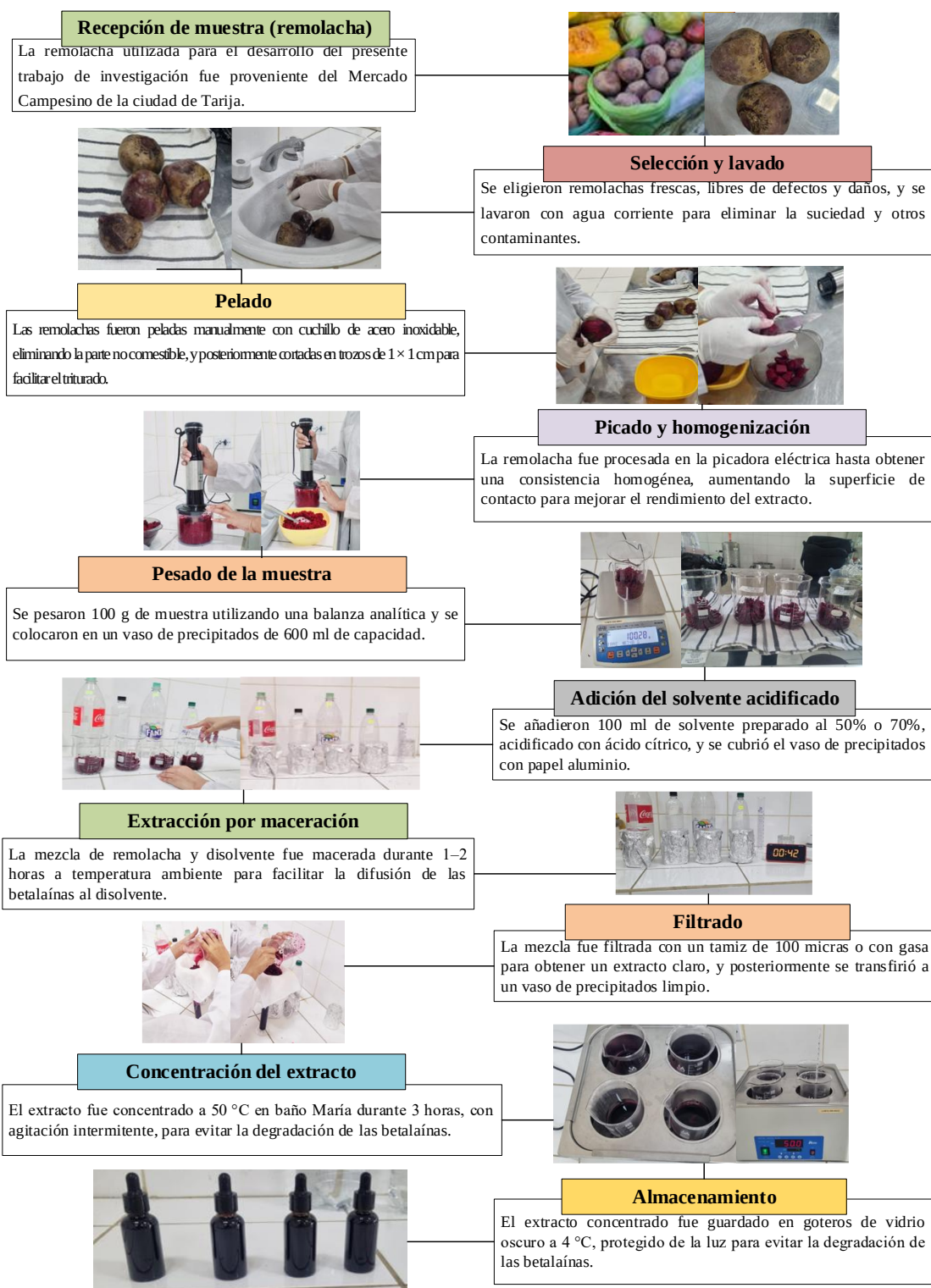


Fuente: Elaboración propia

Figura 3.16: Diagrama experimental para la obtención de extracto de betalainas

3.10.1 Descripción del diagrama experimental para obtener extracto de betalainas de la remolacha.

La Figura 3.17 muestra el proceso de extracción de betalainas de la remolacha.



Fuente: Elaboración propia

Figura 3.17: Descripción del diagrama experimental de la obtención de betalainas.

3.11 Diseño experimental

El diseño experimental es una metodología sistemática utilizada en la industria para planificar y llevar a cabo experimentos con el objetivo de resolver problemas, comprobar hipótesis y optimizar procesos. A diferencia del enfoque de ensayo y error, que se basa en la experiencia y la intuición, el diseño experimental sigue un plan estructurado que garantiza respuestas objetivas y fiables a las preguntas planteadas. (Gutiérrez y De La Vara, 2008)

Según (Hunter et al, 2015) definen el diseño experimental como un enfoque estructurado para llevar a cabo experimentos de tal forma que los datos obtenidos permitan hacer inferencias precisas sobre el efecto de una o más variables. Este enfoque implica la planificación cuidadosa de la experimentación y el uso de técnicas estadísticas avanzadas para analizar los resultados.

(Montgomery, 2017) describe el diseño experimental como un proceso integral que abarca la planificación, ejecución y análisis de experimentos, con el objetivo de comprender las relaciones entre variables y optimizar procesos. Enfatizan la importancia de la replicación, la aleatorización y el control de fuentes de variabilidad para obtener resultados fiables y precisos. Este enfoque permite identificar las condiciones óptimas y reducir la incertidumbre en los resultados experimentales, asegurando que las conclusiones sean robustas y aplicables en la práctica.

3.11.1 Diseño factorial

El diseño factorial es una estrategia experimental que permite estudiar simultáneamente los efectos de dos o más factores y sus posibles interacciones sobre una o más variables de respuesta. Según Montgomery (2017), este tipo de diseño es eficiente porque permite obtener el máximo de información con un número reducido de experimentos, proporcionando además información sobre las interacciones entre factores. Complementariamente, Borror (2009), los diseños factoriales son fundamentales en la mejora de procesos porque permiten identificar combinaciones óptimas de factores que afectan la calidad o rendimiento de un sistema.

3.11.1.1 Diseño factorial 2^3 en el proceso de extracción de betalaínas

El presente trabajo de investigación implementó un diseño experimental durante la fase de extracción para obtener el extracto de betalaínas, basado en la siguiente Ecuación:

$$2^3 = 2 \times 2 \times 2 = 8 \text{ tratamientos (pruebas).} \quad \text{Ecuación 3.1}$$

Para ello, se definieron varias variables independientes, cuyos niveles de variación se detallan a continuación:

A : Solvente (%)	2 niveles
B : Tiempo de maceración (h)	2 niveles
C : pH	2 niveles

Para evaluar el efecto de tres factores sobre el rendimiento del extracto de betalaínas, se aplicó un diseño factorial completo 2^3 , en el cual cada factor se consideró en dos niveles. El análisis estadístico se realizó mediante regresión lineal múltiple, utilizando el modelo:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{123} X_1 X_2 X_3 + \varepsilon$$

Ecuación 3.2

Donde:

Y : Es la variable de respuesta

X_1, X_2, X_3 : Son los factores codificados.

β_0 : Es el intercepto.

$\beta_1, \beta_2, \beta_3$: Son los efectos principales.

$\beta_{12}, \beta_{13}, \beta_{23}, \beta_{123}$: Representan las interacciones entre factores.

ε : es el término de error aleatorio.

Esta metodología permite ajustar una recta que describe la relación entre variables. (Montgomery D, 2017)

En la Tabla 3.4, se presenta la matriz del diseño factorial empleada en la extracción por maceración, la cual incluye tres variables independientes: solvente (%) "A", tiempo de maceración (h) "B" y pH "C", así como una variable dependiente: rendimiento (Yi).

Tabla 3.4

<i>Diseño factorial 2³ en la extracción concentrada de betalainas</i>									
Interacciones	Factores			Interacción			Respuesta		
	A	B	C	AB	AC	BC	Yi1	Yi2	Yi3
(1)	-	-	-	+	+	+	Yi ₁	Yi ₁	Yi ₁
b	+	-	-	-	-	+	Yi ₂	Yi ₂	Yi ₂
b	-	+	-	-	+	-	Yi ₃	Yi ₃	Yi ₃
ab	+	+	-	+	-	-	Yi ₄	Yi ₄	Yi ₄
c	-	-	+	+	-	-	Yi ₅	Yi ₅	Yi ₅
ac	+	-	+	-	+	-	Yi ₆	Yi ₆	Yi ₆
bc	-	+	+	-	-	+	Yi ₇	Yi ₇	Yi ₇
abc	+	+	+	+	+	+	Yi ₈	Yi ₈	Yi ₈

Fuente: Elaboración propia

Variable dependiente: Yi1, Yi2 y Yi3 Transmitancia expresada en rendimiento (%)

En la Tabla 3.5 se detallan los niveles alto y bajo de los factores evaluados durante el proceso de extracción, los cuales corresponden a las tres variables consideradas: solvente (A), tiempo de maceración (B) y pH (C).

Tabla 3.5

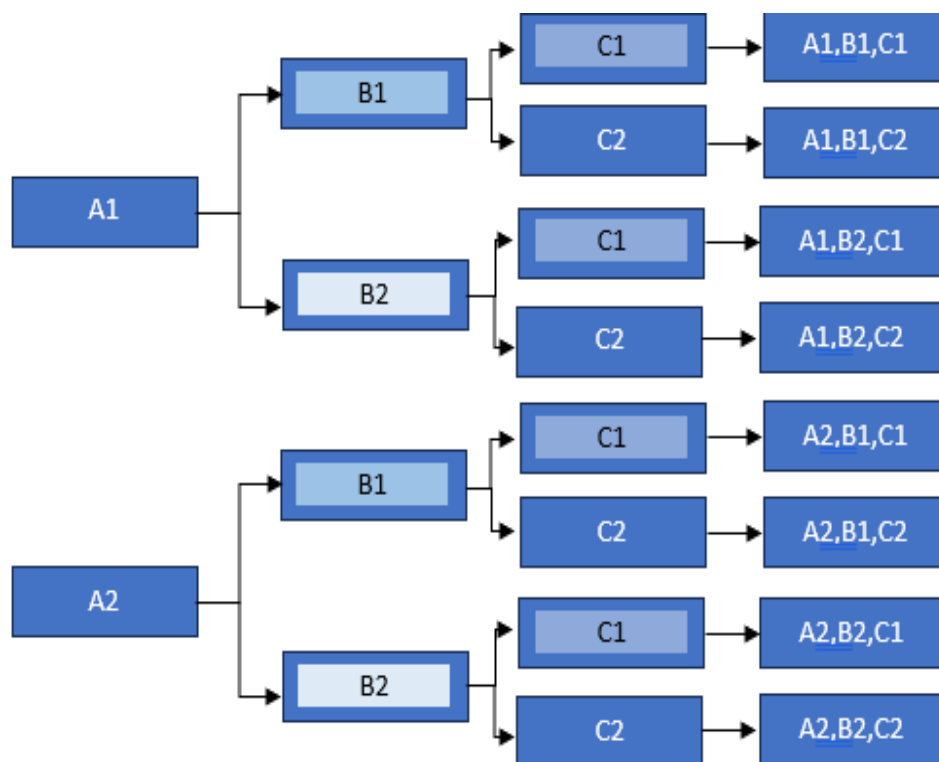
Niveles de variación de los factores en la etapa de extracción de betalainas

Variables	Unidad	Nivel inferior	Nivel superior
Solvente	A (%)	50,0	70,0
Tiempo de maceración	B (h)	1,0	2,0
pH	C	4,0	5,0

Fuente: Elaboración propia

3.11.1.2 Algoritmo del diseño factorial 2^3 de la extracción de betalaínas

En la Figura 3.18 se muestra el algoritmo del diseño factorial 2^3 realizado en el siguiente trabajo de investigación donde se detallan las ocho combinaciones e interacciones de los tres factores y sus respectivos niveles.



Fuente: Elaboración propia

Figura 3.18: Algoritmo del diseño factorial 2^3 del proceso de extracción de betalaínas

Donde:

A : Solvente

B : Tiempo de maceración

C : pH

3.12 Operacionalización de las variables en la extracción de betalaínas

El Cuadro 3.1 muestra la operacionalización de las variables dependiente e independiente, basadas en la extracción de betalaínas de la remolacha.

Cuadro 3.1

Operacionalización de variables en la extracción de betalaínas de la remolacha

Hipótesis	Variables		Descripción	Dimensión	Indicador
Con la aplicación de los principios de extracción de betalaínas de remolacha (<i>Beta vulgaris</i>) con solventes (agua-etanol) a nivel experimental, permitirá obtener un extracto concentrado de betalaínas, en la provincia Cercado de Tarija.	Variable dependiente	Extracto de betalaínas de la remolacha.	"Las betalaínas son pigmentos hidrosolubles que se extraen de la remolacha y se utilizan como colorantes naturales debido a su alta estabilidad y propiedades antioxidantes." (Gengatharan et al, 2015, p. 647).	Análisis fisicoquímicos	Acidez (ac. Cítrico) (g /100 g), Azúcares reductores (g /100 g), Ceniza (g /100 g), Fibra (g /100 g), Grasa (g /100 g), Hidratos de carbono (g /100 g), Humedad (g /100 g), Proteína total (Nx6,25) (g /100 g), pH, Valor energético Kcal/100g
				Análisis microbiológicos	<i>Coliformes totales</i> (UFC/g), <i>Coliformes fecales</i> (UFC/g), Mohos y levaduras (UFC/g), <i>Escherichia coli</i> (UFC/g).
				Análisis físico	Porción comestible (%), Porción no comestible (%), Peso total(g)
	Variable independiente	Método de extracción por solvente.	La extracción con solventes es un proceso mediante el cual se emplean disolventes líquidos para separar compuestos específicos de una matriz sólida o líquida. (Handa et al, 2008, p. 21).	Temperatura	°C
				Tiempo de extracción.	h
				pH	-
				Espectrofotometría	mg/L
				Rendimiento	%

Fuente: Elaboración propia

CAPÍTULO IV

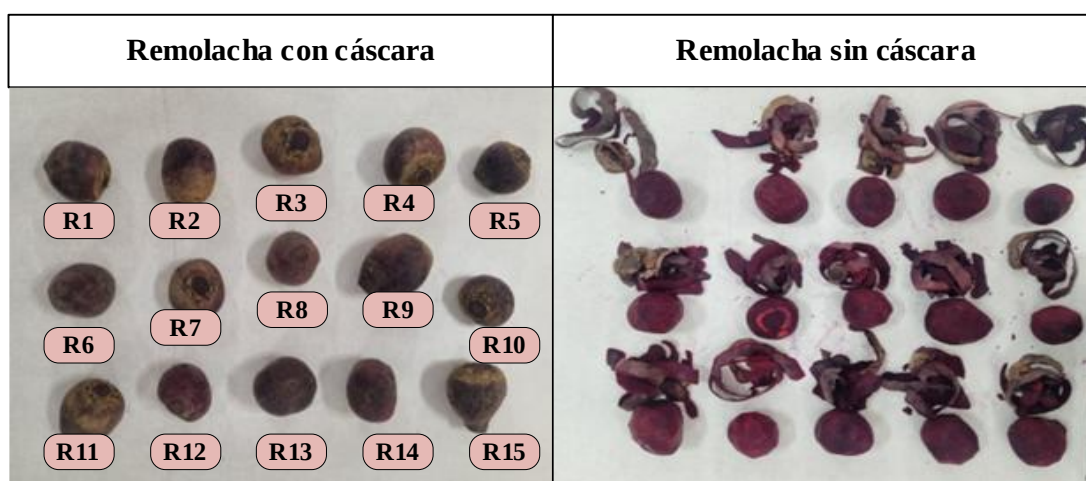
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Caracterización de la remolacha (*Beta vulgaris*)

Para la caracterización de la remolacha (*Beta vulgaris*) en el presente trabajo de extracción de betalainas, se consideraron los resultados de los análisis fisicoquímicos, micronutrientes, microbiológicos y físicos, los cuales se detallan a continuación:

4.1.1 Propiedades físicas de la remolacha (*Beta vulgaris*)

En la Figura 4.1 se muestran las quince muestras de remolacha seleccionadas al azar y aleatoriamente tanto con cáscara y sin cáscara.



Fuente: Elaboración propia

Figura 4.1: Muestras de remolacha seleccionadas aleatoriamente y al azar.

En la Tabla 4.1, se presentan los resultados promedios obtenidos para los parámetros físicos de la remolacha, donde se observa las muestras, peso total, porción comestible (PC) y porción no comestible (PNC) expresados en gramos, porción comestible (PC) y porción no comestible (PNC) expresados en porcentaje y los promedios extraídos de la Tabla A.1 (Anexo A).

Tabla 4.1

Propiedades físicas de la remolacha

Nº	Peso total (g)	PC (g)	PNC (g)	PC (%)	PNC (%)
1	97,38	84,63	12,75	86,90	13,10
2	100,74	88,10	12,62	87,47	12,53
3	84,43	68,97	15,46	81,69	18,31
4	108,63	94,75	13,88	87,22	12,78
5	64,06	53,97	10,09	84,23	15,77
6	115,46	96,96	18,50	83,98	16,02
7	82,72	68,19	14,53	82,43	17,57
8	89,25	75,24	14,01	84,30	15,70
9	131,32	111,68	19,64	85,04	14,96
10	67,22	56,39	10,83	83,89	16,11
11	118,60	101,37	17,23	85,47	14,53
12	90,54	76,21	14,33	84,17	15,83
13	110,20	92,54	17,66	83,97	16,03
14	99,62	83,87	15,75	84,19	15,81
15	105,35	87,90	17,45	83,44	16,56
Σ	1465,49	1240,00	225,49	1268,39	197,10
$\bar{X}$	97,69	82,72	15,03	84,56	15,436

Fuente: Elaboración propia

En la Tabla 4.1 se presentan los promedios de la remolacha obtenidos del análisis físico de la remolacha. Los resultados muestran que el peso total promedio de la misma es 97,69 g, de los cuales 82,72 g corresponden a la porción comestible y 15,03 g corresponden a la porción no comestible. Asimismo, el porcentaje promedio de cada fracción en relación con el peso total, obteniéndose la fracción utilizable de 84,564 % y la no utilizable el 15,436 %.

4.1.2 Análisis fisicoquímico de la remolacha

La Tabla 4.2 muestra los resultados obtenidos del análisis fisicoquímico de la remolacha y cuyos datos fueron extraídos del (Anexo B).

Tabla 4.2

<i>Análisis fisicoquímico de la remolacha</i>		
Parámetros	Unidad	Resultados
Acidez (ac. Cítrico)	g /100 g	0,10
Azúcares reductores	g /100 g	n.d.
Ceniza	g /100 g	1,24
Fibra	g /100 g	1,23
Grasa	g /100 g	0,28
Hidratos de carbono	g /100 g	13,81
Humedad	g /100 g	81,77
Proteína total (Nx6,25)	g /100 g	2,90
pH	-	6,74
Valor energético	Kcal/100g	69,00
Fuente: CEANID, 2024		n.d. : no detectado

En la Tabla 4.2 se presentan los resultados del análisis fisicoquímico de la remolacha, los cuales muestran un contenido de Acidez (ac. Cítrico) 0,10 g/100 g, Azúcares reductores (n.d.) no detectado, Ceniza 1,24 g /100 g, Fibra 1,23 g/100 g, Grasa 0,28 g/100 g, los Hidratos de carbono 13,81 g/100 g, la Humedad del 81,77 g/100 g, Proteína total (N x 6,25) del 2,90 g/100 g, el valor del pH es 6,74 y Valor energético de 69 Kcal/100 g. Donde: n.d. : no detectado.

4.1.3 Análisis microbiológico de la remolacha

En la Tabla 4.3 se presentan los resultados obtenidos del análisis microbiológico de la remolacha de datos recopilados del (Anexo B).

Tabla 4.3

<i>Análisis microbiológico de la remolacha</i>		
Microorganismos	Unidad	Resultado
<i>Coliformes fecales</i>	UFC/g	<1,0 x 10 ¹ (*)
<i>Coliformes totales</i>	UFC/g	<1,0 x 10 ¹ (*)
<i>Escherichia coli</i>	UFC/g	<1,0 x 10 ¹ (*)
Mohos y levaduras	UFC/g	3,2 x 10 ²
Fuente: CEANID, 2024		(*) : No se observa desarrollo de colonias

En la Tabla 4.3 se presentan los resultados del análisis microbiológico de la remolacha los *Coliformes fecales*, *Coliformes totales* y *Escherichia coli* se encuentran por debajo del límite detectable de $1,0 \times 10^1$ (*) UFC/g, cumpliendo con los límites establecidos por la Norma Codex Alimentarius (2020) para productos vegetales frescos. Mohos y levaduras $3,2 \times 10^2$ UFC/g. Donde (*) : No se observa desarrollo de colonias

4.1.4 Análisis de micronutrientes de la remolacha

En la Tabla 4.4 se presentan los resultados del análisis de micronutrientes en la remolacha de datos extraídos del (Anexo B).

Tabla 4.4

<i>Análisis de micronutrientes de la remolacha</i>		
Componentes	Unidad	Resultado
Hierro	mg/100g	0,4
Potasio	mg/100g	287,0

Fuente: CEANID, 2024

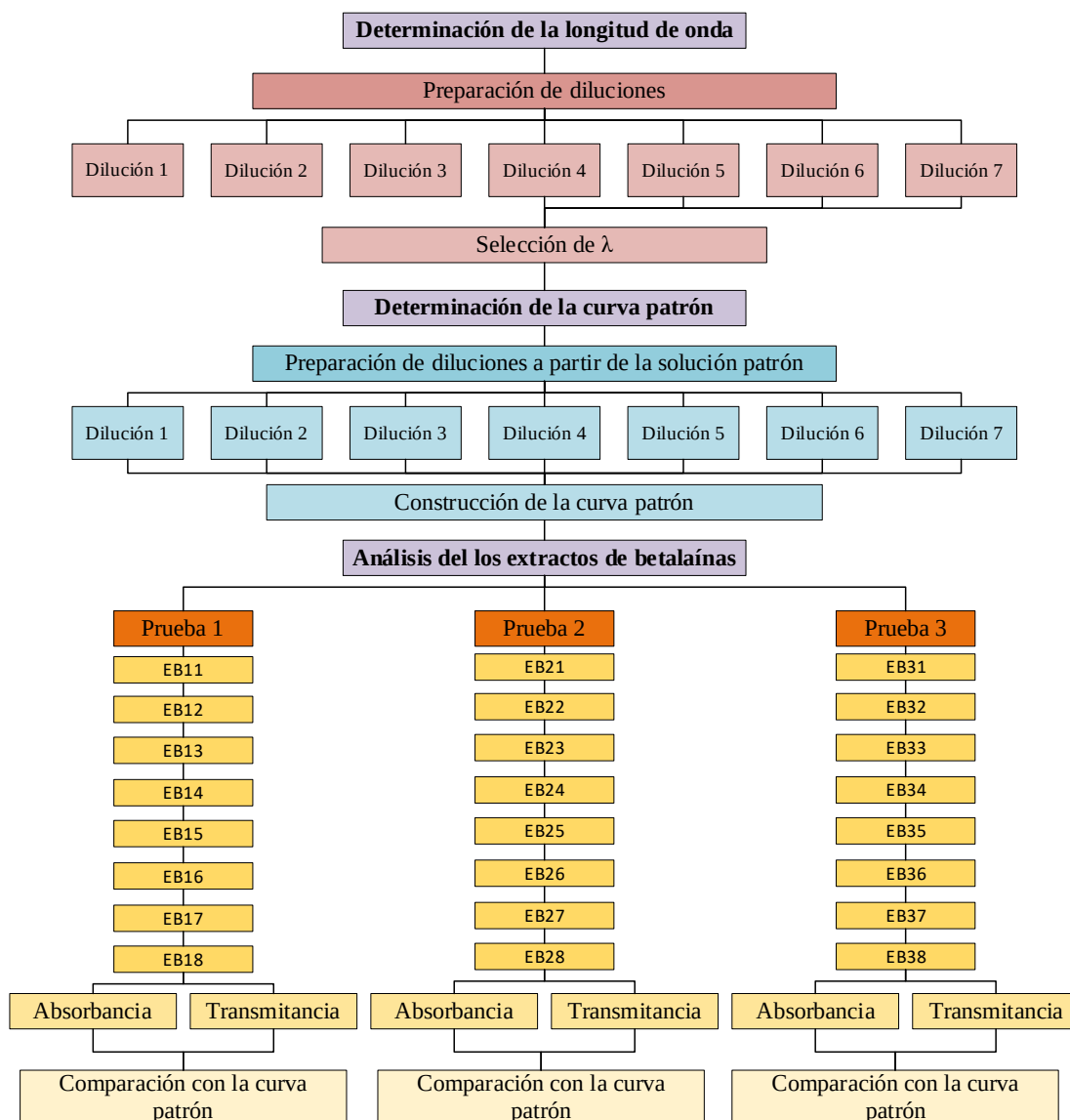
En la Tabla 4.4 se presentan los resultados del análisis de micronutrientes de la remolacha. El hierro 0,4 mg/100g y potasio con 287 mg/100g.

4.2 Caracterización de las variables para el extracto de *betalaínas* de remolacha

Para realizar la parte experimental del presente trabajo de investigación, se tomaron en cuenta los siguientes aspectos:

4.2.1 Procedimiento experimental para el extracto de *betalaínas* de remolacha

En la Figura 4.2 se presenta el procedimiento utilizado para la extracción de *betalaínas*, que incluye la determinación de la longitud de onda. Este proceso comenzó con la preparación siete diluciones de diferente concentración entre (3, 6, 9, 12, 15, 18 y 21) mg/L, se realizó un barrido espectral utilizando un espectrofotómetro UV-Vis digital para determinar la longitud de onda y la cual se utilizó para la construcción de la curva patrón. Finalmente, se llevó a cabo el análisis espectrofotométrico de las ocho muestras de los extractos.

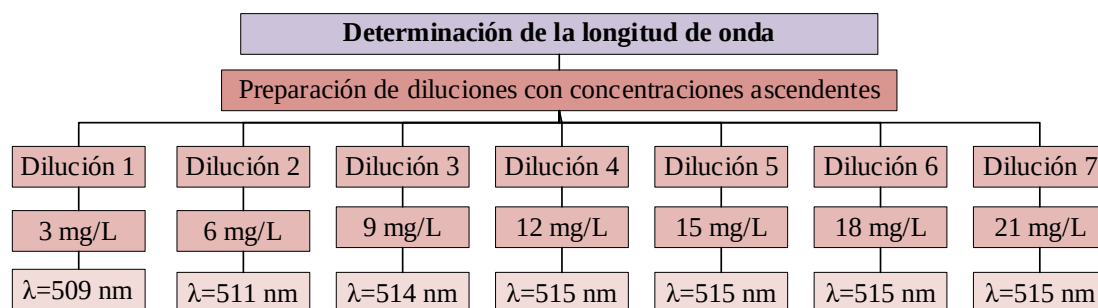


Fuente: Elaboración propia

Figura 4.2: Procedimiento experimental para el extracto de betalainas de remolacha.

4.2.2 Determinación de longitud de onda de betalainas por barrido espectral

En la Figura 4.3 se muestra el procedimiento para la determinación de la longitud de onda de las betalainas, utilizando siete diluciones con concentraciones conocidas entre (3, 6, 9, 12, 15, 18 y 21) mg/L. Este procedimiento se llevó a cabo con el objetivo de establecer el valor máximo de absorbancia en función de la longitud de onda, ya que no se cuenta con un patrón estándar de referencia a nivel experimental.



Fuente: Elaboración propia

Figura 4.3: Determinación de longitud de onda de betalaínas por barrido espectral.

En la Tabla 4.5 se muestran los valores de la longitud de onda correspondiente a cada concentración de las diluciones preparadas en función del máximo valor de absorbancia observado para cada una de ellas y cuyos cálculos fueron extraídos del (Anexo D).

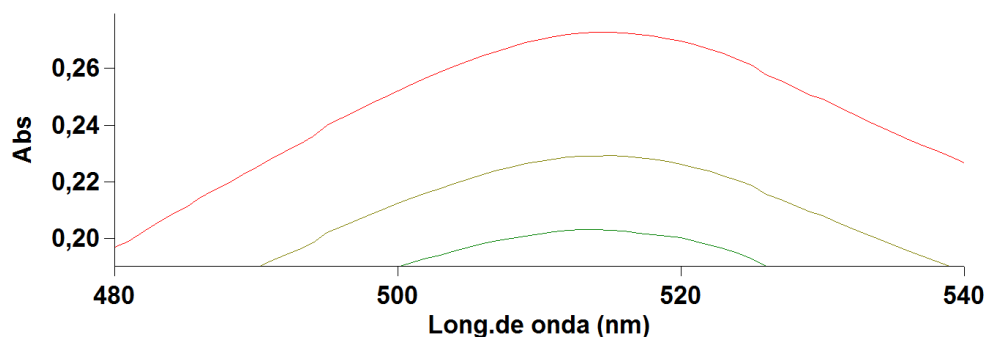
Tabla 4.5

<i>Valores de longitud de onda de las disoluciones</i>		
Concentración (mg/L)	Absorbancia	Longitud de onda (nm)
3	0,045	509
6	0,083	511
9	0,127	514
12	0,157	515
15	0,203	515
18	0,229	515
21	0,273	515

Fuente: Elaboración propia

Según los datos presentados en la Tabla 4.5 el valor de longitud de onda seleccionada para la determinación de las betalaínas de remolacha es 515 nm, debido que presentó un valor de mayor frecuencia en la longitud de onda en las concentraciones de diluciones de extracto comercial de entre (12, 15, 18 y 21) mg/L realizadas en el espectrofotómetro UV-Vis.

En la Figura 4.4 se presenta el espectro de absorbancia correspondiente a las diluciones analizadas, donde se observa la relación entre el valor de la absorbancia eje vertical y longitud de onda eje horizontal. El cual fue construido a partir de los datos experimentales registrados en la Tabla 4.5.



Fuente: Elaboración propia

Figura 4.4: Longitud de onda de betalaínas por barrido espectral.

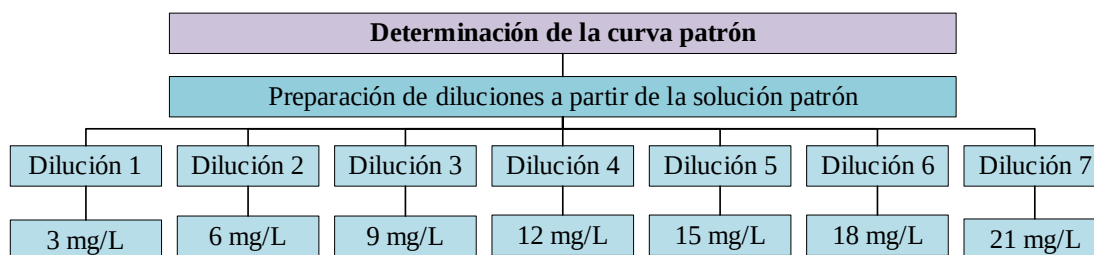
Donde:

Abs : Absorbancia

Long. de onda : Longitud de onda (nm)

4.2.3 Determinación de la curva patrón del extracto de betalaínas

En la Figura 4.5 se puede observar el procedimiento para la construcción de la curva patrón, que comienza con la preparación de siete diluciones con concentraciones entre (3, 6, 9, 12, 15, 18, 21) mg/L y detallados en el (Anexo C). Con la finalidad de establecer una relación lineal entre concentración y absorbancia del extracto de betalaínas.



Fuente: Elaboración propia

Figura 4.5: Determinación de la curva patrón.

En la Tabla 4.6 se muestran los resultados de concentraciones en función de la absorbancia en base a las siete diluciones entre (3, 6, 9, 12, 15, 18 y 21) mg/L, con el objetivo de construir la curva patrón del extracto de betalaínas de datos extraídos del (Anexo E).

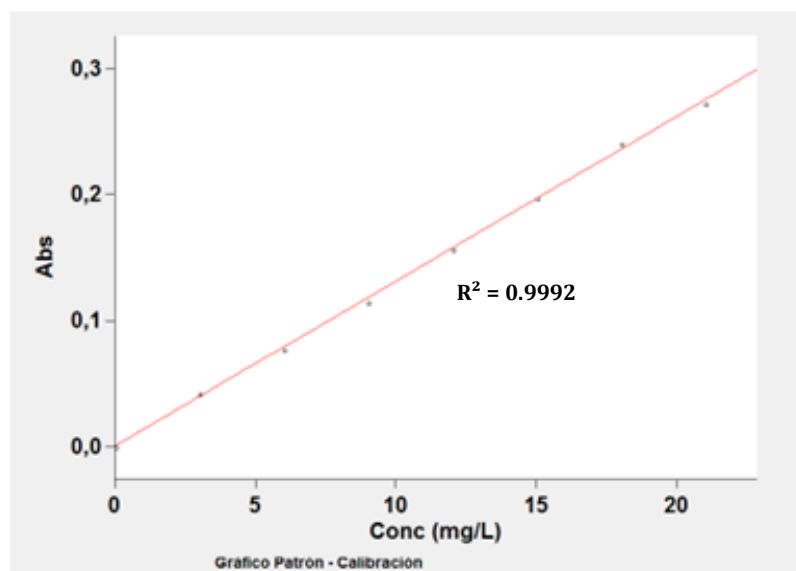
Tabla 4.6

Concentración en función de la absorbancia de curva patrón

Concentración mg/L	Absorbancia
0	0,0001
3	0,0425
6	0,0775
9	0,1149
12	0,1570
15	0,1979
18	0,2407
21	0,2724

Fuente: Elaboración propia

La Figura 4.6 muestra la curva patrón obtenida mediante mediciones de absorbancia realizadas con el espectrofotómetro UV-Vis, en función de la concentración del extracto comercial de betalaínas, la cual se obtuvo a partir de los datos presentados de la Tabla 4.6 y los cuales fueron procesados mediante el software Cary WinUV-Vis.

**Fuente:** Elaboración propia**Figura 4.6:** Curva patrón de extracto comercial de betalaínas.

Donde:

Abs : Absorbancia (-)

Conc : Concentración (mg/L)

La Figura 4.6 muestra una relación lineal directa entre la concentración (mg/L) y la absorbancia, con un coeficiente de correlación de $R^2 = 0.9992$.

4.2.4 Determinación de la concentración del extracto de betalaínas

Para la determinación de la concentración del extracto de betalaínas, se tomó en cuenta lo siguiente:

4.2.4.1 Pruebas preliminares de la concentración del extracto de betalaínas de remolacha

En el procedimiento de extracto concentrado de *betalaínas*, se realizaron pruebas preliminares para optimizar tres factores: concentración del solvente, tiempo de maceración y pH. En base Gutiérrez et al. (2013) que establece que concentraciones de solvente entre 50% y 70% favorecen una adecuada extracción de los colorantes. Muzzalupo et al. (2017) señalan que tiempos de maceración prolongados aumentan la exposición al oxígeno, lo que provoca el pardeamiento del extracto y reduce la estabilidad de las betalaínas, por lo que el tiempo de maceración se fijó entre 1 y 2 horas. Finalmente, María et al. (2015) indican que los mejores rendimientos de extracción de betalaínas se obtienen en rangos de pH entre 4,0 y 6,0 por lo que se seleccionaron valores de pH entre (4,0; 5,0 y 6,0),

En la Tabla 4.7 se presentan los valores de los factores considerados en las pruebas preliminares de los extractos de betalaínas, los cuales se detallan:

Tabla 4.7

Factores y niveles del extracto de betalaínas en remolacha

Factores	Niveles		
Concentración del solvente (%)	50,0	-	70,0
Tiempo de extracción (h)	1,0	-	2,0
pH	4,0	5,0	6,0

Fuente: Elaboración propia

En la Tabla 4.8 se muestran los resultados detallados de los rendimientos (%) obtenidos en las pruebas preliminares, en donde se indican los rangos de concentración de

solvente entre (50 - 70) %, tiempo de maceración entre (1 - 2) h y valores de pH entre (4,0; 5,0 y 6,0) cuyos datos fueron extraídos de Tabla G.1 (Anexo G,1).

Tabla 4.8

<i>Rendimiento de betalaínas en función de solvente, tiempo y pH</i>				
Muestras	Concentración del solvente (%)	Tiempo de maceración (h)	pH	Rendimiento (%)
EB1	50	1	4	0,120
EB2	50	1	5	0,249
EB3	50	1	6	0,160
EB4	50	2	4	0,334
EB5	50	2	5	1,168
EB6	50	2	6	0,082
EB7	70	1	4	0,270
EB8	70	1	5	0,249
EB9	70	1	6	0,028
EB10	70	2	4	0,196
EB11	70	2	5	0,226
EB12	70	2	6	0,070

Fuente: Elaboración propia

4.2.4.2 Análisis del pH y selección de condiciones

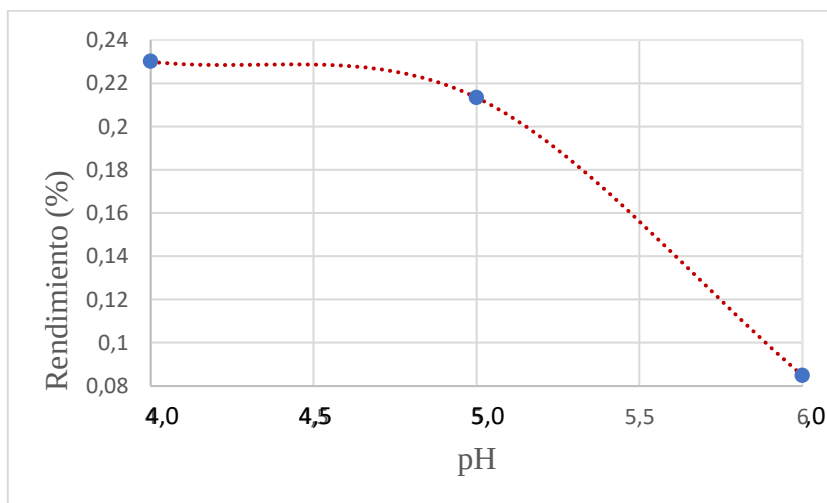
En la Tabla 4.9 se muestran los promedios de los rendimientos, según el pH utilizados entre valores de (4,0; 5,0 y 6,0); con el fin de determinar el pH óptimo para la extracción de betalaínas.

Tabla 4.9

<i>Rendimiento de betalaínas en función del pH</i>	
pH	Promedio de rendimiento (%)
4,0	0,229975
5,0	0,213400
6,0	0,084900

Fuente: Elaboración propia

En la Figura 4.7 se muestra el efecto del pH sobre el rendimiento en donde se observa que pH entre (4,0 y 5,0) se obtiene el mejor rendimiento de betalaínas entre (0,229975 y 0,213400) %, mientras que pH 6,0 el rendimiento es menor (0,084900) %.



Fuente: Elaboración propia

Figura 4.7: Rendimiento respecto al pH en extracción de betalaínas

De los resultados mostrados en la Figura 4.7 se determinó que pH entre (4,0 y 5,0) proporcionan el mejor rendimiento del extracto de betalaínas, lo que llevó a la selección de estas condiciones para el desarrollo de pruebas experimentales y las cuales se detallan en la Tabla 4.10:

Tabla 4.10

<i>Factores del extracto de betalaínas</i>		
Factores	Niveles	
Concentración del solvente (%)	50,0	70,0
Tiempo de extracción (h)	1,0	2,0
pH	4,0	5,0

Fuente: Elaboración propia

En la Tabla 4.11 se muestran los factores y niveles aplicados en las pruebas experimentales (prueba 1, prueba 2 y prueba 3) para la extracción de betalaínas, considerando ocho muestras codificadas para cada prueba, los cuales se basan en tres factores: concentración del solvente entre (50 - 70) %, tiempo de extracción entre (1 - 2) horas y pH entre (4,0 - 5,0).

Tabla 4.11

<i>Factores y niveles para la extracción de betalaínas</i>				
Pruebas	Muestras	Factores		
		Concentración del solvente (%)	Tiempo de extracción (h)	pH
Prueba 1	EB11	70	2	5
	EB12	50	2	5
	EB13	70	1	5
	EB14	50	1	5
	EB15	70	2	4
	EB16	50	2	4
	EB17	70	1	4
	EB18	50	1	4
Prueba 2	EB21	70	2	5
	EB22	50	2	5
	EB23	70	1	5
	EB24	50	1	5
	EB25	70	2	4
	EB26	50	2	4
	EB27	70	1	4
	EB28	50	1	4
Prueba 3	EB31	70	2	5
	EB32	50	2	5
	EB31	70	1	5
	EB32	50	1	5
	EB33	70	2	4
	EB34	50	2	4
	EB35	70	1	4
	EB36	50	1	4

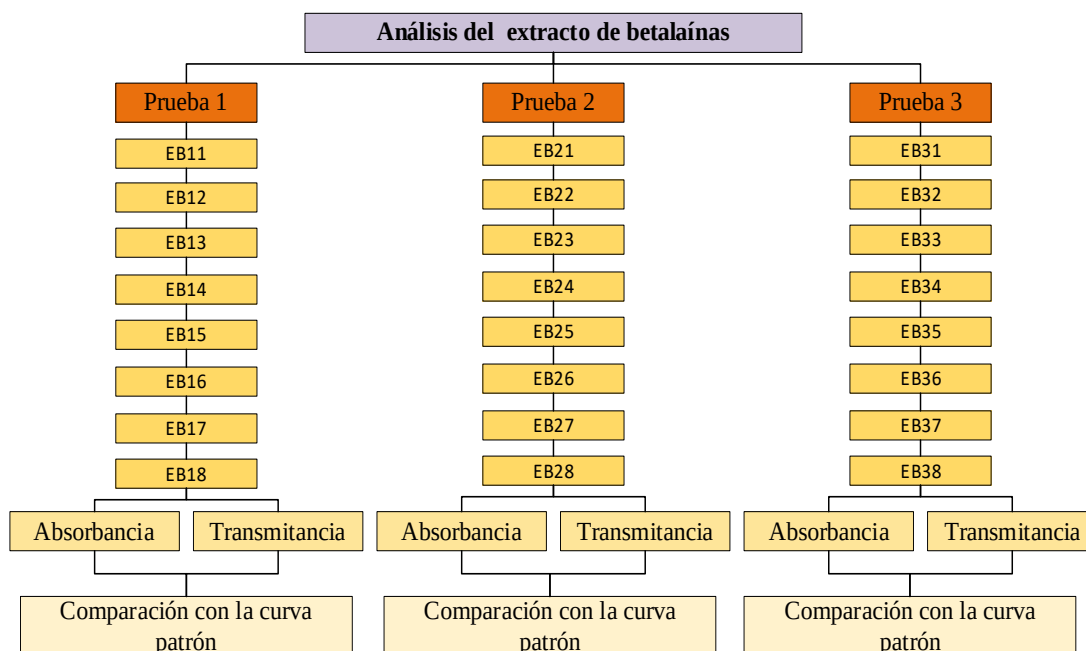
Fuente: Elaboración propia

4.2.5 Determinación de la concentración de las betalaínas

Para determinar la absorbancia y transmitancia de los extractos de betalaínas se realizaron tres pruebas con el espectrofotómetro UV-Vis, cada uno con sus ocho muestras debidamente codificados: Prueba 1 (EB11, EB12, EB13, EB14, EB15, EB16, EB17 y EB18); prueba 2 (EB21, EB22, EB23, EB24, EB25, EB26, EB27 y EB28) y prueba 3 (EB31, EB32, EB33, EB34, EB35, EB36, EB37 y EB38).

Así mismo, se comparó el valor de absorbancia de los extractos con los valores de la curva patrón (Figura 4.6) lo que permitió estimar la concentración de betalaínas en las muestras.

En la Figura 4.8 se muestra el procedimiento utilizado para determinar la concentración de betalaínas en los extractos, mediante mediciones espectrofotométricas de absorbancia-transmitancia, y su posterior comparación con la curva patrón.

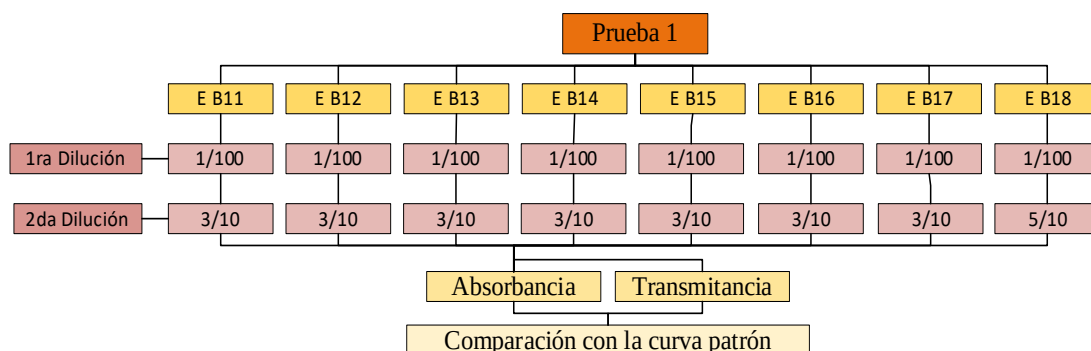


Fuente: Elaboración propia

Figura 4.8: Análisis de extractos de betalaínas comparadas con la curva patrón.

4.2.5.1 Determinación de la absorbancia en función de la concentración del extracto de betalaínas en la prueba 1

En la Figura 4.9 se muestran los ocho extractos codificados (EB11, EB12, EB13, EB14, EB15, EB16, EB17 y EB18) de la prueba 1 para determinar el valor de absorbancia del extracto de betalaínas.



Fuente: Elaboración propia

Figura 4.9: Determinación de la absorbancia de los extractos de betalainas prueba 1

La Tabla 4.12 presenta los resultados de la prueba 1, correspondientes a las mediciones de concentración realizada a las ocho muestras. Los datos fueron ingresados en el software estadístico Minitab versión 19 de Windows 10, con el fin de determinar el coeficiente de regresión lineal.

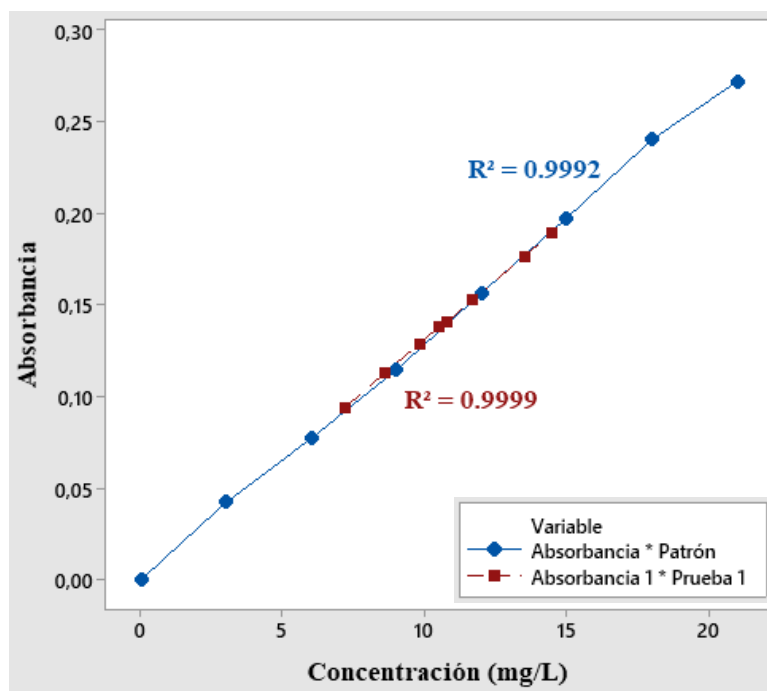
Tabla 4.12

Absorbancia en función de la concentración para la curva patrón y la prueba 1

Patrón		Prueba 1	
Concentración	Absorbancia	Concentración	Absorbancia
mg/L		mg/L	
0,00	0,0001	11,7	0,1534
3,00	0,0425	7,2	0,0945
6,00	0,0775	10,8	0,1412
9,00	0,1149	10,5	0,1384
12,00	0,1570	9,8	0,1291
15,00	0,1979	14,5	0,1901
18,00	0,2407	13,5	0,1769
21,00	0,2724	8,6	0,1133

Fuente: Elaboración propia

En la Figura 4.10 se muestran los resultados de los coeficientes de correlación lineal entre la absorbancia y la concentración de betalainas, obtenidos a partir de las lecturas realizadas con el espectrofotómetro de la prueba 1.



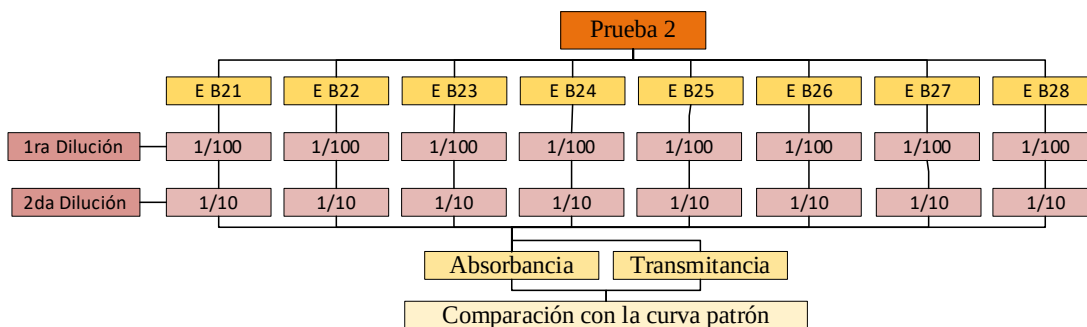
Fuente: Elaboración propia

Figura 4.10: Absorbancia en función de la curva patrón y prueba 1

De acuerdo con la Figura 4.10, se observa para la muestra patrón un coeficiente de correlación de $R^2 = 0,9992$, mientras que para la prueba 1 $R^2 = 0,9999$.

4.2.5.2 Determinación de la absorbancia en función de la concentración del extracto de betalaínas en prueba 2

En la Figura 4.11 se muestran las ocho muestras de extractos codificados (EB21, EB22, EB23, EB24, EB25, EB26, EB27 y EB28) de la prueba 2 para determinar la absorbancia del extracto de betalaínas.



Fuente: Elaboración propia

Figura 4.11: Determinación de absorbancia de los extractos de betalaínas de prueba 2

En la Tabla 4.13 se muestran los resultados obtenidos de la prueba 2, correspondientes a las mediciones de concentración realizadas a las ocho muestras. Los datos fueron ingresados en el software estadístico Minitab versión 19, para Windows 10, para determinar el coeficiente de regresión lineal.

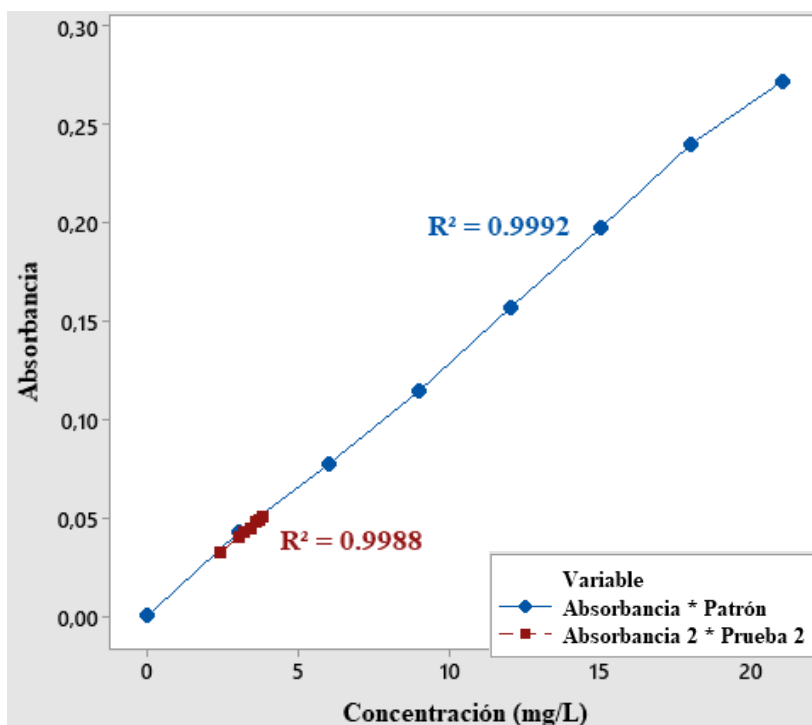
Tabla 4.13

Absorbancia en función de la concentración para la curva patrón y prueba 2

Patrón		Prueba 2	
Concentración	Absorbancia	Concentración	Absorbancia
mg/L		mg/L	
0,00	0,0001	3,8	0,0504
3,00	0,0425	3,2	0,0425
6,00	0,0775	3,0	0,0400
9,00	0,1149	2,4	0,0322
12,00	0,1570	3,4	0,0446
15,00	0,1979	3,7	0,0486
18,00	0,2407	3,6	0,0479
21,00	0,2724	2,4	0,0320

Fuente: Elaboración propia

En la Figura 4.12 se muestran los resultados de los coeficientes de correlación lineal entre la absorbancia y la concentración de betalaínas, obtenida a partir de mediciones con el espectrofotómetro UV-Vis de la prueba 2.



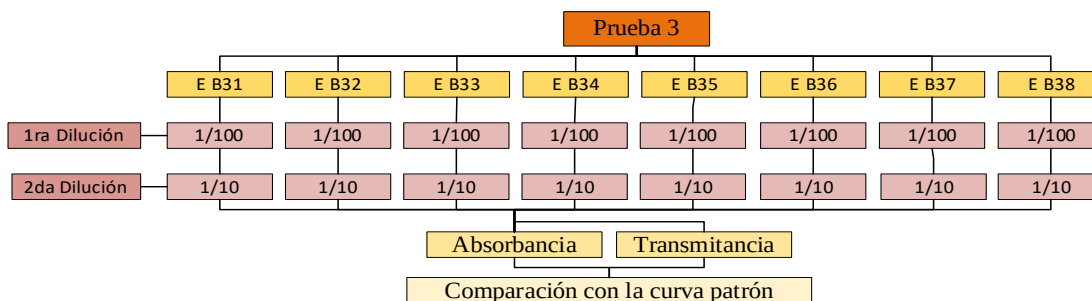
Fuente: Elaboración propia

Figura 4.12: Absorbancia en función de concentración del análisis 2

De acuerdo con la Figura 4.12 se observa que para la muestra patrón se tiene un coeficiente de correlación de $R^2 = 0,9992$, mientras que para la prueba 2 $R^2 = 0,9988$.

4.2.5.3 Determinación de la absorbancia en función de la concentración del extracto de betalaínas prueba 3

En la figura 4.13 se muestran las ocho muestras de extractos de betalaínas codificados (EB31, EB32, EB33, EB34, EB35, EB36, EB37 y EB38) de la prueba 3 para determinar la absorbancia del extracto de betalaínas.



Fuente: Elaboración propia

Figura 4.13: Determinación de absorbancia de los extractos de betalaínas prueba 3

En la Tabla 4.14 se muestran los resultados obtenidos de la prueba 3, correspondientes a las mediciones de concentración realizadas. Los datos fueron ingresados en el software estadístico Minitab versión 19, Windows 10, para determinar el coeficiente de regresión lineal.

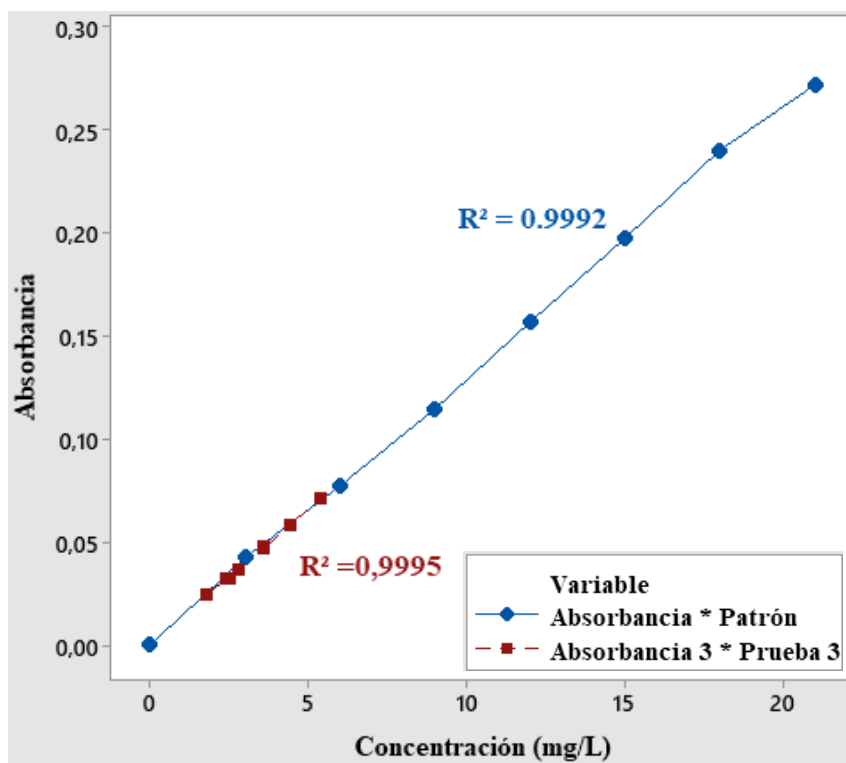
Tabla 4.14

Absorbancia en función concentración para la curva patrón y prueba 3

Patrón		Prueba 3	
Concentración	Absorbancia	Concentración	Absorbancia
mg/L		mg/L	
0,00	0,0001	1,8	0,0242
3,00	0,0425	2,5	0,0326
6,00	0,0775	3,6	0,0477
9,00	0,1149	2,8	0,0370
12,00	0,1570	5,4	0,0715
15,00	0,1979	2,4	0,0324
18,00	0,2407	4,4	0,0583
21,00	0,2724	3,6	0,0473

Fuente: LSAF,2025

En la Figura 4.14 se muestra la relación entre la absorbancia y la concentración de betalaínas, obtenida a partir de las mediciones con el espectrofotómetro UV-Vis para la prueba 3.



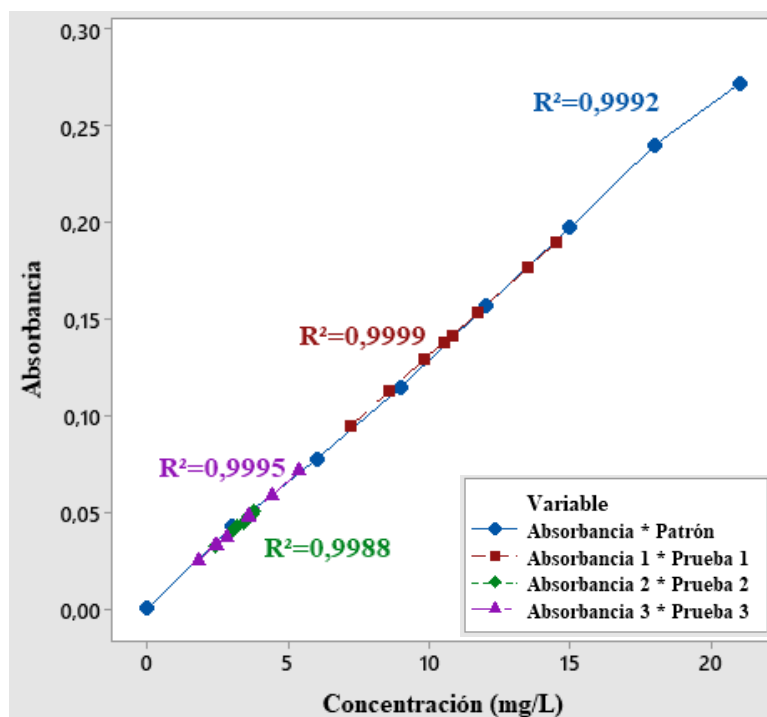
Fuente: Elaboración propia

Figura 4.14: Absorbancia en función de concentración de prueba 3

Según la Figura 4.14 se observa que para la muestra patrón se tiene un coeficiente de correlación de $R^2 = 0.9992$, mientras que para la prueba 3 $R^2 = 0.9995$.

4.2.5.4 Comparación de absorbancia entre la curva patrón, prueba 1, prueba 2 y prueba 3 del extracto de betalaínas

La Figura 4.15 muestra la relación lineal entre la absorbancia y la concentración de betalaínas obtenida de tres pruebas experimentales (prueba 1, prueba 2 y prueba 3) realizados mediante espectrofotometría UV-Vis y los cuales se alinean con la curva patrón establecida.



Fuente: Elaboración propia

Figura 4.15: Comparación de absorbancia en función de concentración de las tres pruebas

La Figura 4.15 muestra una relación lineal directa entre la concentración de betalaínas y el valor de su absorbancia, con el coeficiente de correlación $R^2 = 0,9992$ para la curva patrón, para la prueba 1 $R^2 = 0,9999$, para la prueba 2 $R^2 = 0,9988$ y para la prueba 3 $R^2 = 0,9995$. La prueba 1 presenta el mayor coeficiente de regresión, lo que sugiere una mayor precisión en la medición bajo esas condiciones experimentales, seguido de la prueba 3. La comparación entre las pruebas y la curva patrón permite confirmar que el comportamiento de los extractos de betalaínas es consistente, y que las condiciones de extracción aplicadas en la prueba 1 y prueba 3 favorecen una respuesta lineal.

4.2.6 Determinación de transmitancia de betalaínas de remolacha

Para evaluar la transmitancia de los extractos de betalaínas de remolacha, se utilizaron los valores de absorbancia en las tres pruebas experimentales, correspondientes de la Tabla 4.11 (prueba 1), Tabla 4.12 (prueba 2) y Tabla 4.13 (prueba 3). Asimismo, se aplicó la Ecuación 4.1 derivada de la modificación de la Ecuación 2.2 como base para determinar el rendimiento del extracto de betalaínas.

$$\%T = \frac{1}{10^{abs}} * 100 \quad \text{Ecuación 4.1}$$

Donde:

$\%T$: Transmitancia (%)

abs : Absorbancia

4.2.7 Transmitancia del extracto comercial de betalaínas para la curva patrón

En la Tabla 4.15 se muestran los resultados obtenidos de la transmitancia en función de la concentración del extracto comercial de betalaínas de datos extraídos de la Tabla H.1 (Anexo H.1).

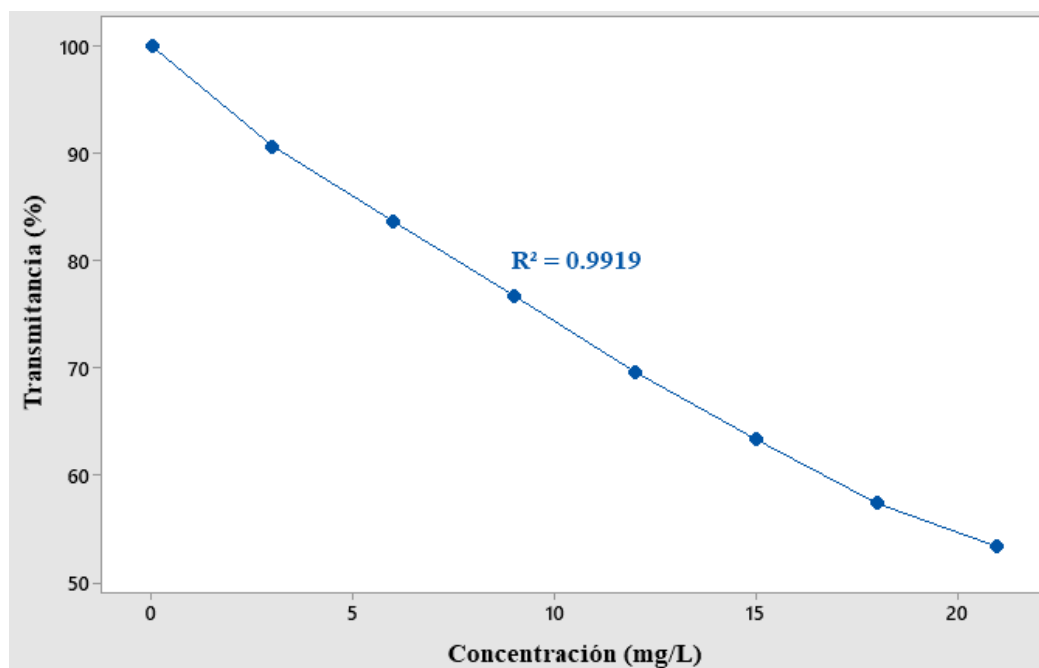
Tabla 4.15

Transmitancia del extracto comercial de betalaínas en función de la concentración

Concentración (mg/L)	Transmitancia (%)
0,00	99,98
3,00	90,68
6,00	83,66
9,00	76,75
12,00	69,66
15,00	63,40
18,00	57,45
21,00	53,41

Fuente: Elaboración propia

La Figura 4.16 presenta los valores de transmitancia en función de la concentración, correspondientes a la curva patrón del extracto comercial de betalaínas, procesados con el software estadístico Minitab versión 19.



Fuente: Elaboración propia

Figura 4.16: Transmitancia de la curva patrón del extracto comercial de betalaínas

La Figura 4.16 muestra la relación inversa entre la concentración de betalaínas (mg/L) y la transmitancia (%), con coeficiente de correlación de $R^2 = 0.9919$. Evidenciando que a medida que aumenta la concentración del pigmento, disminuye la cantidad de luz que atraviesa la muestra de extracto de betalaínas.

4.2.7.1 Transmitancia del extracto de betalaínas para la prueba 1

La Tabla 4.16 presenta los resultados de transmitancia (%) en función de la concentración del extracto de betalaínas obtenidos para la prueba 1 y la curva patrón, de datos extraídos de la Tabla H.2 (Anexo H.2).

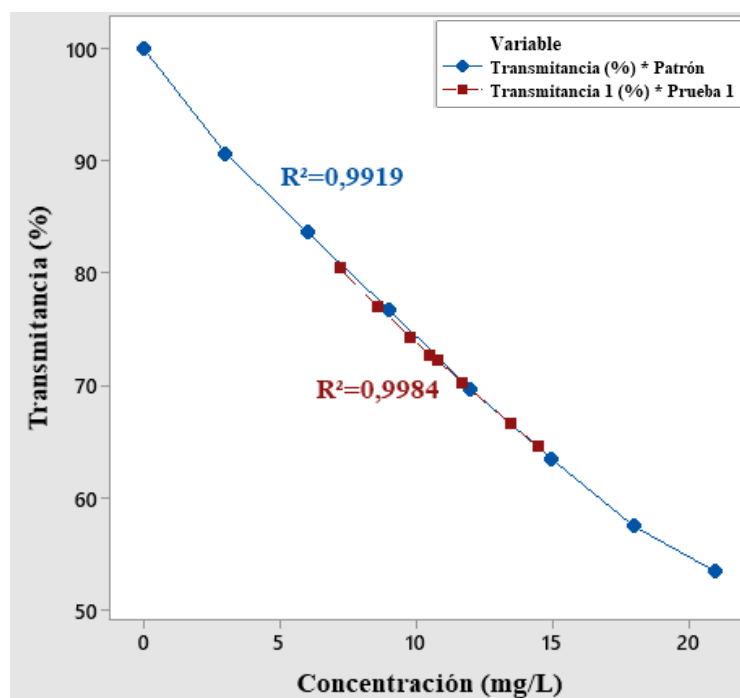
Tabla 4.16

Transmitancia en función concentración para la curva patrón y prueba 1

Patrón		Prueba 1	
Concentración (mg/L)	Transmitancia (%)	Concentración mg/L	Transmitancia (%)
0,00	99,98	11,7	70,24
3,00	90,68	7,2	80,45
6,00	83,66	10,8	72,24
9,00	76,75	10,5	72,71
12,00	69,66	9,8	74,28
15,00	63,40	14,5	64,55
18,00	57,45	13,5	66,54
21,00	53,41	8,6	77,04

Fuente: Elaboración propia

En la Figura 4.17 se muestran los resultados de Transmitancia (%) en función de la concentración (mg/L) de la prueba 1 con la curva patrón que fueron ingresados en el Software estadístico Minitab versión 19, para determinar el rendimiento del extracto de betalaínas a partir de los datos extraídos de la Tabla 4.16.

**Fuente:** Elaboración propia**Figura 4.17:** Transmitancia de la curva patrón y prueba 1

En la Figura 4.17 se puede observar que en la prueba 1, se obtuvo un valor de coeficiente de correlación de $R^2 = 0,9984$, y curva patrón $R^2 = 0,9919$.

4.2.7.2 Transmitancia del extracto de betalaínas para la prueba 2

La Tabla 4.17 muestra los resultados de transmitancia (%) en función de la concentración del extracto de betalaínas obtenidos en la prueba 2 y curva patrón, los datos fueron extraídos de Tabla H.3 (Anexo H.3).

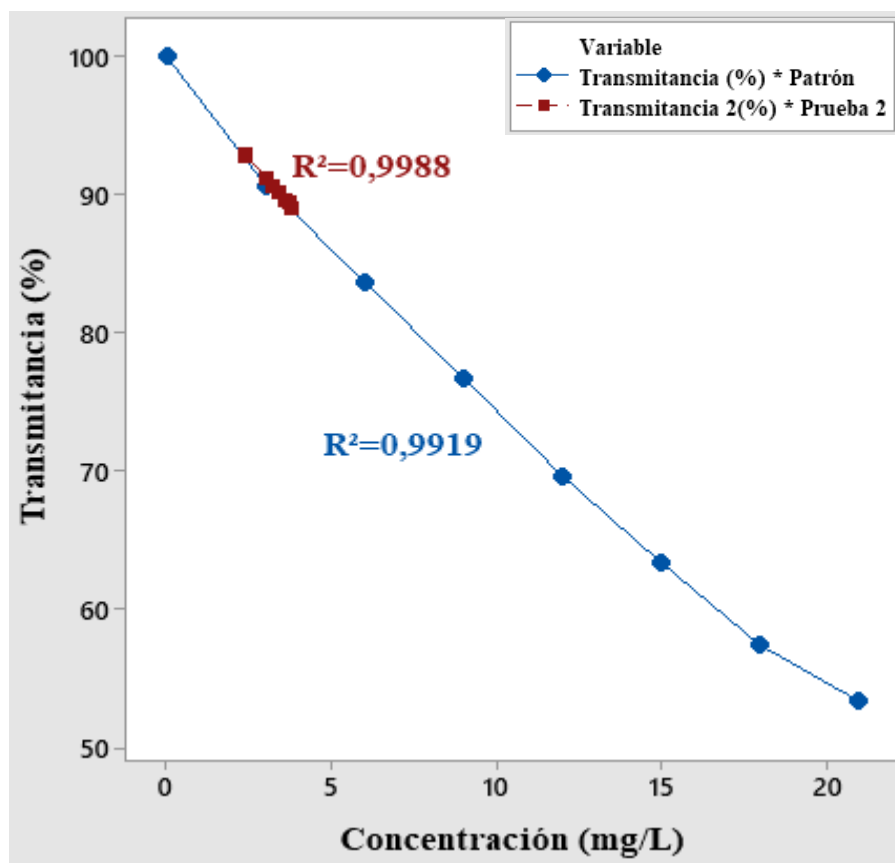
Tabla 4.17

Transmitancia en función concentración para la curva patrón y prueba 2

Patrón		Prueba 2	
Concentración	Transmitancia	Concentración	Transmitancia
(mg/L)	(%)	mg/L	(%)
0,00	99,98	3,8	89,04
3,00	90,68	3,2	90,68
6,00	83,66	3,0	91,20
9,00	76,75	2,4	92,85
12,00	69,66	3,4	90,24
15,00	63,40	3,7	89,41
18,00	57,45	3,6	89,56
21,00	53,41	2,4	92,90

Fuente: Elaboración propia

En la Figura 4.17 se muestran los resultados de la Transmitancia (%) en función de la concentración (mg/L) de prueba 2 con la curva patrón que fueron ingresados en el Software estadístico Minitab versión 19, con el fin de determinar el rendimiento del extracto de betalaínas.



Fuente: Elaboración propia

Figura 4.18: Transmitancia de la curva patrón y prueba 2

En la Figura 4.18 se puede observar que en la prueba 2, se obtuvo un valor de coeficiente de correlación de $R^2 = 0,9988$, y la curva patrón $R^2 = 0,9919$.

4.2.7.3 Transmitancia del extracto de betalaínas para prueba 3

La Tabla 4.18 muestra los resultados de transmitancia (%) en función de la concentración del extracto de betalaínas obtenidos en la prueba 2 y la curva patrón, los datos fueron extraídos de Tabla H.4 (Anexo H,4).

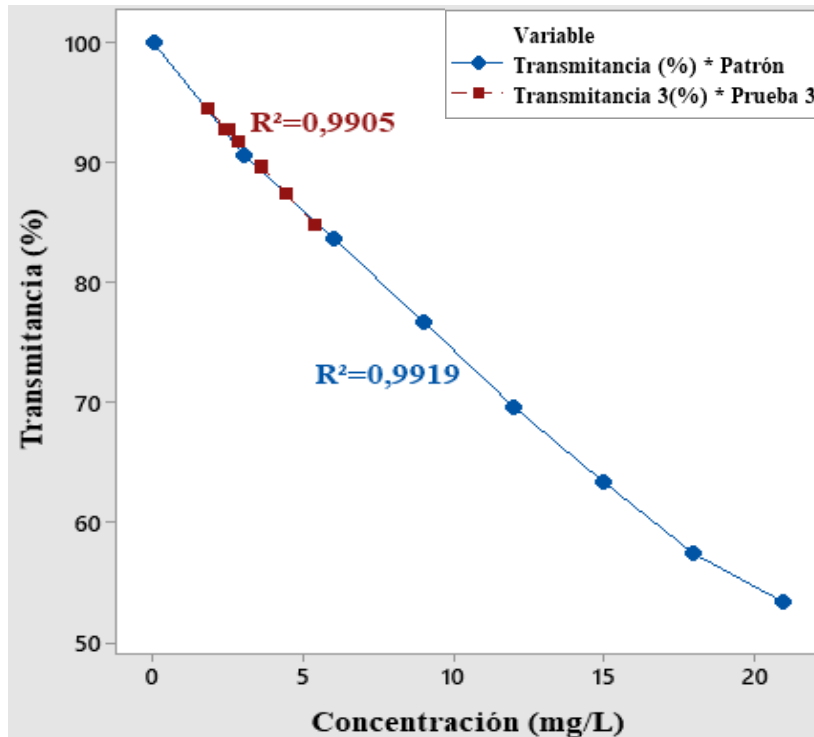
Tabla 4.18

Transmitancia en función concentración para la curva patrón y prueba 3

Patrón		Prueba 3	
Concentración	Transmitancia	Concentración	Transmitancia
(mg/L)	(%)	mg/L	(%)
0,00	99,98	1,8	94,58
3,00	90,68	2,5	92,77
6,00	83,66	3,6	89,60
9,00	76,75	2,8	91,83
12,00	69,66	5,4	84,82
15,00	63,40	2,4	92,81
18,00	57,45	4,4	87,44
21,00	53,41	3,6	89,68

Fuente: Elaboración propia

En la Figura 4.19 se muestran los resultados de la Transmitancia (%) en función de la concentración (mg/L) de la prueba 3 con la curva patrón que fueron introducidos en el Software estadístico Minitab versión 19.



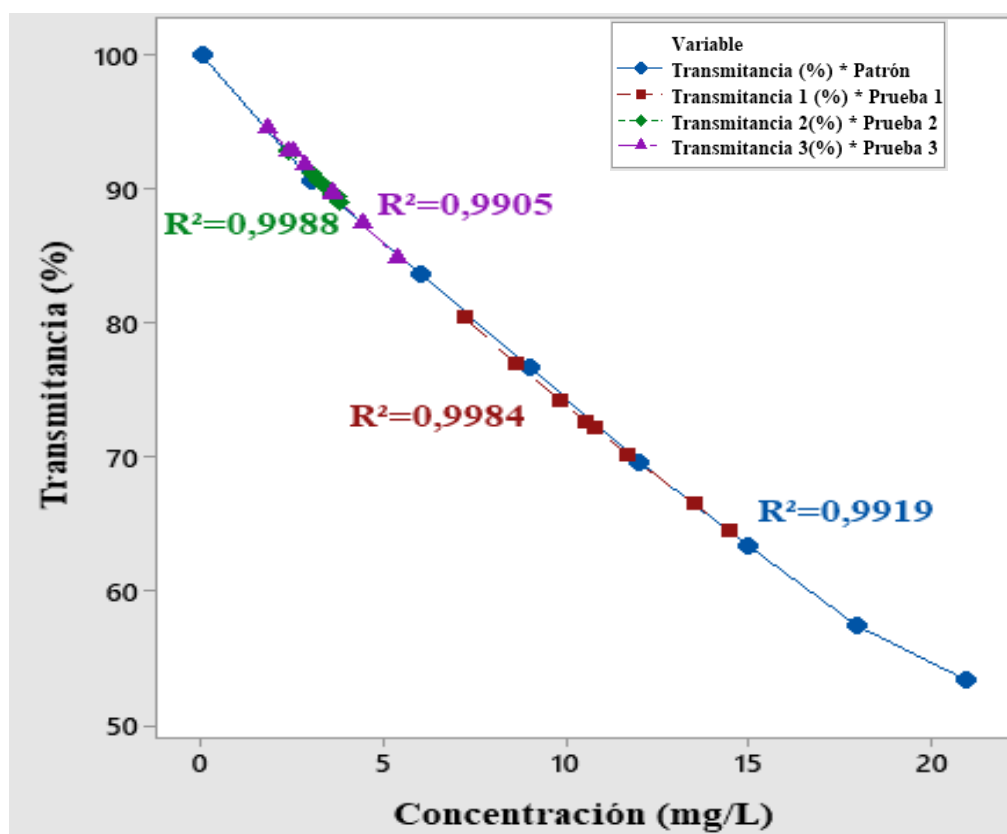
Fuente: Elaboración propia

Figura 4.19: Transmitancia de la curva patrón y prueba 3

En la Figura 4.19 se puede observar que para la prueba 3, se obtuvo un valor del coeficiente de correlación $R^2 = 0,9905$, y la curva patrón $R^2 = 0,9919$.

4.2.7.4 Comparación de la transmitancia de curva patrón, prueba 1, prueba 2 y prueba 3 del extracto de betalaínas

La Figura 4.20 muestra la comparación de los resultados de transmitancia (%) en función de la concentración (mg/L), tanto para la curva patrón como para las tres pruebas realizadas (Prueba 1, Prueba 2 y Prueba 3) del extracto de betalaínas. Los datos fueron obtenidos de las Tablas H.2, H.3 y H.4 (Anexo H) y procesados mediante el software estadístico Minitab versión 19.



Fuente: Elaboración propia

Figura 4.20: Comparación de transmitancia de la curva patrón, prueba 1, prueba 2 y prueba 3

La Figura 4.20 muestra los coeficientes de correlación obtenidos para la curva patrón $R^2 = 0.9919$, prueba 1 $R^2 = 0.9984$, prueba 2 $R^2 = 0.9988$ y prueba 3 $R^2 = 0.9905$.

Los mejores ajustes lineales se observan en la prueba 1 y la curva patrón, lo que indica una alta precisión en la relación entre transmitancia y concentración. Sin embargo, la prueba 3 presenta valores de transmitancia más bajos, lo que indica una mayor concentración de betalaínas en el extracto evaluado.

4.3 Diseño factorial 2³ en el extracto de betalaínas de remolacha

Para determinar qué variable influye en mayor medida en el extracto concentrado de *betalaínas* de remolacha, se realizaron pruebas experimentales considerando las siguientes variables: Concentración de solvente: 50% y 70% (A), tiempo de maceración: 1 h y 2 h (B) y pH: 4,0 y 5,0 (C) y la variable rendimiento del extracto de betalaínas expresada en (%).

En la Tabla 4.19 se muestran los resultados del rendimiento expresados en (%) del extracto de betalaínas de remolacha, de las réplicas realizadas, datos que fueron extraídos de Tabla I.3 (Anexo I).

Tabla 4.19

Rendimiento de extracto concentrado de betalaínas de remolacha

Combinaciones	A concentración de solvente	B tiempo de maceración	C pH	Réplica I	Réplica II	Réplica III	Total Yi
(1)	70	2	5	0,226	0,247	0,130	0,2009
a	50	2	5	0,168	0,240	0,190	0,1993
b	70	1	5	0,216	0,195	0,223	0,2114
c	50	1	5	0,249	0,182	0,207	0,2127
ab	70	2	4	0,196	0,221	0,389	0,2686
ac	50	2	4	0,334	0,266	0,173	0,2576
bc	70	1	4	0,270	0,216	0,264	0,2500
abc	50	1	4	0,120	0,172	0,259	0,1841

Fuente: Elaboración propia

4.3.1 Análisis de varianza para el diseño factorial del rendimiento del extracto de betalainas de remolacha

En base al diseño factorial 2^3 aplicado en el extracto de *betalainas*, se llevó a cabo un análisis de varianza (ANOVA) para evaluar la influencia de las variables independientes sobre el rendimiento de los extractos (%).

En la Tabla 4.20 se muestran los resultados obtenidos del análisis de varianza que fueron obtenidos utilizando el programa statgraphics 19 para Windows 2010 de datos extraídos de Tabla I.4 (Anexo I).

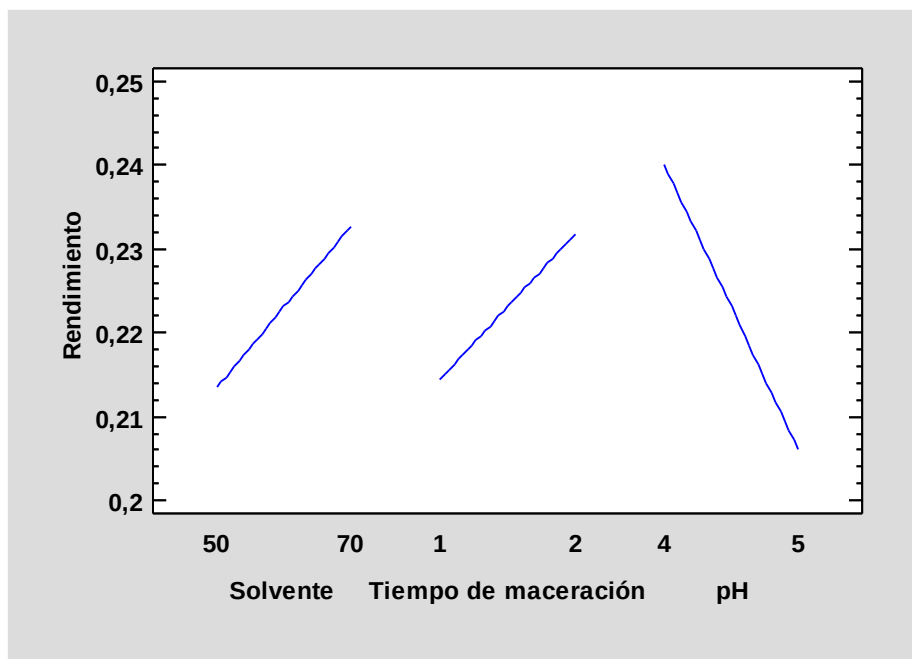
Tabla 4.20

<i>Análisis de varianza del rendimiento del extracto concentrado de betalainas</i>					
Fuente de varianza (FV)	Suma de cuadrados (SC)	Grados de libertad (GL)	Cuadrado medio (CM)	Fcal	Ftab
Factor: a	0,00223108	1	0,00223108	0,53	0,4801
Factor: b	0,00177160	1	0,00177160	0,42	0,5284
Factor: c	0,00692920	1	0,00692920	1,63	0,2218
Interacción: ab	0,00101660	1	0,00101660	0,24	0,6319
Interacción: ac	0,00220800	1	0,00220800	0,52	0,4823
Interacción: bc	0,00507504	1	0,00507504	1,20	0,2923
Interacción: abc	0,00127604	1	0,00127604	0,30	0,5919
Error total	0,05933670	14	0,00423834	-	-
Total	0,08040770	23	-	-	-

Fuente: Elaboración propia

Según la Tabla 4.18 del análisis de varianza se observan que los factores A y B y las interacciones (AB y ABC) no son estadísticamente significativos debido a que $F_{cal} < F_{tab}$, por lo tanto, se acepta la hipótesis planteada, sin embargo, el factor C y la interacciones (AC y BC), si presenta diferencia significativa en el proceso de extracción de betalainas, ya que $F_{cal} > F_{tab}$, por tanto, se rechaza la hipótesis planteada para un nivel de significancia $\alpha = 0,05$.

En la Figura 4.21 se muestra los efectos principales de los factores: Concentración de solvente (A), tiempo de maceración (B) y pH (C) en relación con el rendimiento (%).

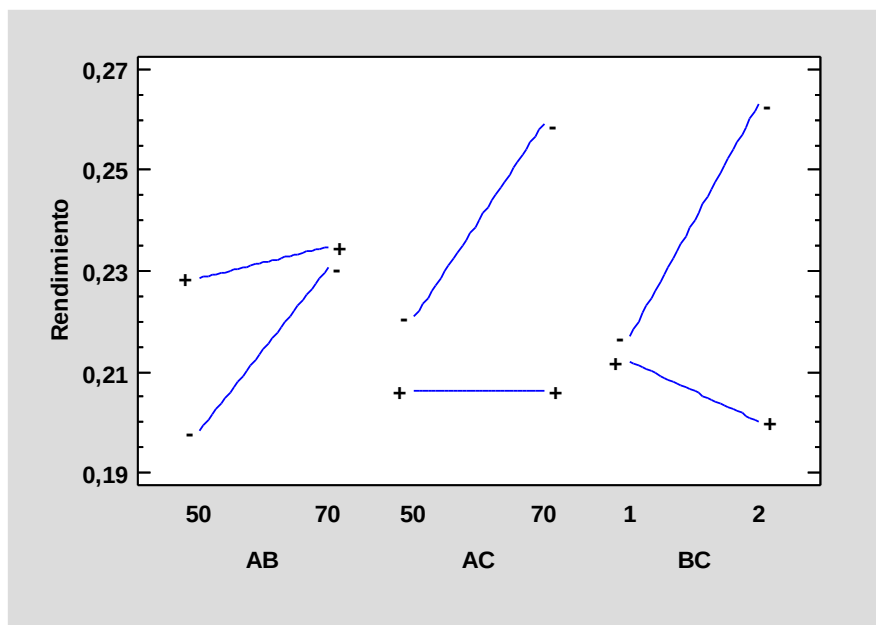


Fuente: Elaboración propia

Figura 4.21: Efectos principales para el rendimiento de extracto de betalainas

En la Figura 4.21 de efectos principales muestra que tanto la concentración de solvente como el tiempo de maceración influyen positivamente en el rendimiento de la extracción. A medida que se incrementa la concentración del solvente (50 a 70) % y el tiempo de maceración (1 a 2) h, el rendimiento tiende a aumentar, lo que indica que estos factores son determinantes para mejorar la eficiencia del proceso. Por otro lado, el pH (4,0 a 5,0) presenta una variación menos pronunciada, lo que indica que su influencia sobre el rendimiento es menor en comparación con los otros factores evaluados.

En la Figura 4.22 se muestra las interacciones para los factores concentración y tiempo de maceración (AB), concentración y pH (AC), tiempo de maceración y pH (BC), en función con la variable rendimiento cuyos datos fueron extraídos de la Figura I.2 (Anexo I)

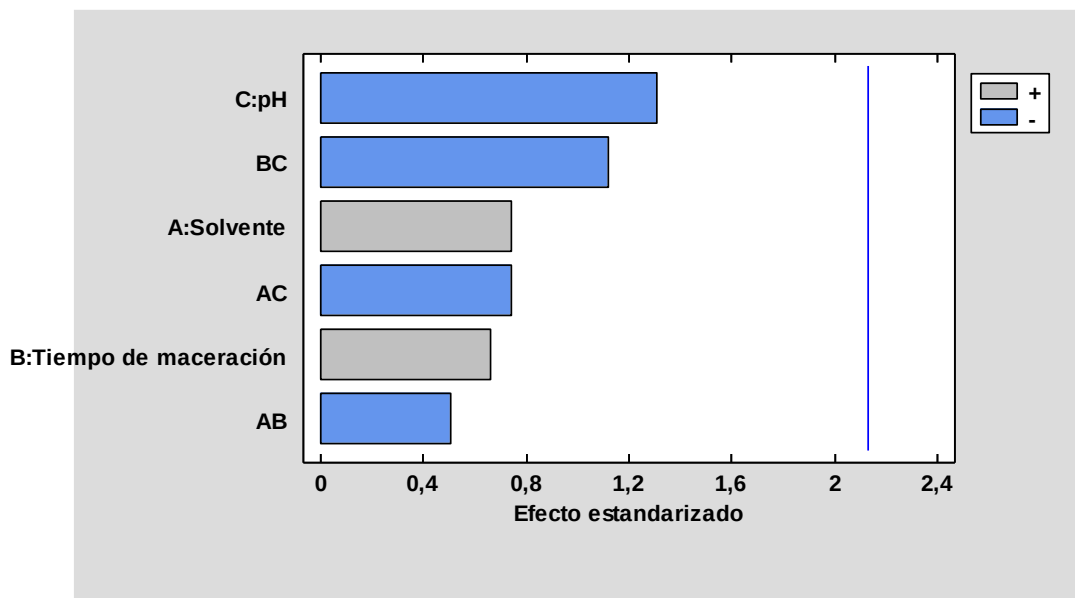


Fuente: Elaboración propia

Figura 4.22: Interacciones de factores del rendimiento del extracto de betalaínas

En la Figura 4.22 se observa cómo las diferentes combinaciones de factores (AB, AC y BC) afectan el rendimiento de la variable en estudio. En la interacción AB, se observa que el rendimiento aumenta con el incremento del valor del primer factor (50 a 70) %, mientras que en la interacción AC, el rendimiento disminuye con el aumento de las concentraciones del segundo factor (50 a 70) %. En la interacción BC, la diferencia entre los niveles de factor no tiene un impacto claro en el rendimiento, ya que las líneas son casi horizontales, lo que indica poca o nula interacción entre estos dos factores. Por lo tanto, los factores AB y AC tienen efectos significativos en el rendimiento, mientras que la interacción BC no muestra una relación significativa.

La Figura 4.23 muestra el diagrama de Pareto estandarizado donde se observa los efectos de distintos factores y sus interacciones sobre el rendimiento del extracto de betalaínas. En el eje horizontal se representa el efecto estandarizado, mientras que en el eje vertical se listan los factores evaluados y los datos fueron extraídos de la Figura I.3 (Anexo I)



Fuente: Elaboración propia

Figura 4.23: Diagrama de Pareto estandarizado para el rendimiento de extracto betalaínas

Como se observa en la Figura 4.23, el factor más influyente es el pH (C), seguido por la interacción BC. Estos dos factores tienen efectos estandarizados positivos más significativos, lo que indica que el rendimiento aumenta considerablemente al modificar estas variables. En contraste, los factores solventes (A), tiempo de maceración (B) y sus respectivas interacciones como AB y ABC tienen los efectos más bajos, y por tanto no son estadísticamente significativos para un nivel de significancia $\alpha = 0,05$.

4.3.2 Coeficiente de regresión del rendimiento del extracto de betalaínas

Mediante la ecuación 4.2 ajustada de la ecuación 3.2 del modelo de regresión se muestra los datos experimentales del rendimiento (%) para los extractos concentrados de *betalaínas* y datos extraídos de la Tabla H.2 (Anexo H).

$$\text{Rendimiento} = -1,91657 + 0,0312367A + 1,14453 * B + 0,430867 * C - 0,0144267 * A * B - 0,00629333 * B * C - 0,233167 * A * C + 0,00291667 * A * B * C \quad \text{Ecuación 4.2}$$

Donde los factores concentración de solvente(A), tiempo de maceración(B) y pH (C) están especificados en sus unidades originales.

4.3.3 Optimización del rendimiento del extracto concentrado de betalaínas

Para optimizar el rendimiento del extracto concentrado de betalaínas mediante el diseño factorial aplicado, se elaboraron ocho muestras bajo condiciones controladas. Las variables consideradas en cada ensayo se detallan en la Tabla 4.21

Tabla 4.21

Optimización del rendimiento del extracto de betalaínas en remolacha

Muestras	Concentración de solvente (%)	Tiempo de maceración (h)	pH
EB1	70	2	5
EB2	50	2	5
EB3	70	1	5
EB4	50	1	5
EB5	70	2	4
EB6	50	2	4
EB7	70	1	4
EB8	50	1	4

Fuente: Elaboración propia

En la Tabla 4.22 se muestran los valores óptimos para maximizar el rendimiento de las muestras del extracto de betalaínas los datos extraídos de la Tabla I.6 (Anexo I).

Tabla 4.22

Valores óptimos para maximizar el rendimiento del extracto

Factores	Bajo	Alto	Óptimo
Concentración de solvente (A)	50,0	70,0	70,0
Tiempo de maceración (B)	1,0	2,0	2,0
pH (C)	4,0	5,0	4,0

Fuente: Elaboración propia

Según la Tabla 4.22, los valores óptimos que permitieron maximizar el rendimiento en las muestras del extracto de betalaínas fueron: concentración de solvente al 70 %, tiempo de maceración de 2 horas y pH 4. Bajo estas condiciones, se seleccionó la muestra EB5, considerada como la más eficiente dentro del conjunto experimental, con un valor de 0,2686 %.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y

RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- Según los análisis físicos de la remolacha presenta un promedio: 97,69 g del peso total de la remolacha; porción comestible 84,564% y la porción no comestible el 15,436 %.
- Los análisis fisicoquímicos de la remolacha mostraron un contenido de acidez (ac. Cítrico) 0,10 g/100 g, azúcares reductores (n.d.) no detectado, ceniza 1,24 g/100 g, fibra 1,23 g/100 g, grasa 0,28 g/100 g, hidratos de carbono 13,81 g/100 g, humedad del 81,77 g/100 g, proteína total (N x 6,25) del 2,90 g/100 g, el valor del pH es 6,74 y valor calórico de 69 Kcal/100 g. En cuanto a micronutrientes hierro 0,4 mg/100g y potasio de 287,0 mg/100g.
- Según los análisis microbiológicos de la remolacha presentó: *Coliformes fecales* $<1,0 \times 10^1$ (*) UFC/g, *Coliformes totales* $<1,0 \times 10^1$ (*) UFC/g, *Escherichia coli* $<1,0 \times 10^1$ (*) UFC/g, y Mohos y levaduras $3,2 \times 10^2$ UFC/g. Donde (*): No se observa desarrollo de colonias
- Se estableció la longitud de onda óptima de 515 nm, la cual se mantuvo constante en las diluciones de 12, 15, 18 y 21 mg/L, para la cuantificación de betalaínas, y se construyó una curva patrón con un coeficiente de correlación de ($R^2 = 0,9992$) lo que valida la precisión del método espectrofotométrico.
- Realizado el análisis cuantitativo de las pruebas experimentales del extracto de betalaínas se verificó una alta correlación entre la transmitancia y la concentración de la prueba 2; ya que presentó mejor coeficiente de correlación ($R^2 = 0.9988$).
- En base al diseño factorial 2^3 se demostró que el pH y las interacciones BC (tiempo–pH) y AC (solvente–pH) tienen un efecto significativo sobre el rendimiento del extracto. El mayor rendimiento (0,2686 %) se obtuvo en la muestra EB5, correspondiente a la combinación de solvente al 70 %, 2 horas de

maceración y pH 4,0, condiciones que favorecen la estabilidad y solubilidad de las betalaínas.

5.2 Recomendaciones

- Se recomienda la implementación de una planta piloto en la provincia Cercado-Tarija para la extracción de betalaínas en forma de extracto concentrado, utilizando los parámetros óptimos identificados en el presente estudio: 70 % de concentración de solvente, 2 horas de maceración y pH 4,0.
- Se recomienda utilizar este tipo de extracto concentrado de betalaínas en la formulación de alimentos funcionales (productos lácteos fermentados, alimentos enriquecidos, postres saludables, etc.) para aprovechar sus propiedades antioxidantes, su capacidad colorante natural y su potencial nutracéutico.
- Se recomienda aplicar la extracción de betalaínas realizando a partir de otras fuentes vegetales (como la tuna, amaranto, entre otros) con el fin de validar la versatilidad y aplicabilidad del método utilizado en este estudio.
- Se recomienda que los restos de remolacha obtenidos tras la extracción de betalaínas sean aprovechados de manera integral, destinándolos a la producción de fibra dietética, alimentación animal o compostaje para biofertilizantes. Esta práctica no solo contribuye a reducir el desperdicio, sino que también fortalece la sostenibilidad y el valor agregado de la cadena productiva de la remolacha en la región.