

DEGRADACIÓN DE BETALAINAS EN REMOLACHA (*Beta vulgaris* L.) ESTUDIO CINÉTICO

Betalains Degradation in Beet Root (*Beta vulgaris* L.): Kinetic Study

Mario José Moreno Álvarez, Alfredo Vilorio Matos y Douglas R. Belén C.

Universidad Simón Rodríguez, Carrera de Ingeniería de Alimentos, Laboratorio de Biomoléculas, Núcleo Canoabo,
Sector Los Naranjos, Carretera Nacional vía Urama, Edo. Carabobo, Venezuela.

Fax: 58-249-71184-91795. E-mail: morenoalvarez@Latinmail.com y/o morenoalvarez@Hotmail.com

RESUMEN

Degradación de betalainas (betacianina y betaxantina) provenientes de raíces de remolacha (*Beta vulgaris* L.) fueron evaluadas. Los pigmentos previamente purificados, fueron expuestos a una fuente de luz blanca, a pH 6,1 y temperatura de $25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$. A intervalos de 5h se midieron los valores de absorbancia a 537 y 465 nm respectivamente, con la finalidad de determinar: orden de reacción, tiempo de vida medio ($t_{1/2}$) y constante de degradación (k). Como conclusión se encontró que las reacciones presentaron un modelo cinético de primer orden. La degradación de la betacianina fue menos rápida ($t_{1/2}$: 53 h; k: $13,1 \times 10^{-3} \text{ h}^{-1}$) que la betaxantina ($t_{1/2}$: 8,42 h; k: $82,2 \times 10^{-3} \text{ h}^{-1}$). En condiciones experimentales la betacianina y betaxantina presentaron un valor de cero en su concentración a los 304,5 h y 49,1 h respectivamente.

Palabras clave: *Beta vulgaris*, betalainas, betacianinas, betaxantina, degradación.

ABSTRACT

Degradation of betalains (betacyanin and betaxanthin) from beet root (*Beta vulgaris* L.) was evaluated. Pigments purified previously were exposed individually to white light, at pH 6.1, temperature of 25°C , and were monitored spectrophotometrically by the absorbance at 537 and 465 nm respectively, over intervals of 5 h. Order, half-life ($t_{1/2}$) and rate constant (k) of every degradation were determined. Reactions followed a first order kinetic model. Betacyanin degraded less rapidly ($t_{1/2}$ 53 h; k: $13.1 \times 10^{-3} \text{ h}^{-1}$) than betaxanthin ($t_{1/2}$ 8.42 h; k: $82.2 \times 10^{-3} \text{ h}^{-1}$). Under these experimental conditions, betacyanin and betaxanthin concentrations were zero at 304.5 h and 49.1 h respectively.

Key words: *Beta vulgaris*, betalains, betacyanin, betaxanthin, degradation.

INTRODUCCIÓN

Los pigmentos rojos obtenidos de raíces de remolacha (*Beta vulgaris* L.) han presentado considerable interés como pigmentos naturales, pertenecientes al grupo de las betalainas [3, 5, 11, 13]. Se ha descrito la presencia de dos grupos principales, las betacianinas y betaxantinas en las raíces de remolacha (*B. vulgaris*) [2, 3, 14]. Químicamente son moléculas derivadas del ácido betalámico, solubles en agua. En el área de los alimentos son sustitutos de colorantes sintéticos en la elaboración de gelatinas, confituras, yogur de fresa, helados de cremas, cocktails de frutas, caramelos y galletas siendo aceptado por la Comunidad Económica Europea (clasificado con el código E162) como rojo remolacha producido por deshidratación y pulverización de *B. vulgaris* [12, 6]. Sin embargo por ser estructuras sensibles a la oxidación química, su aprovechamiento integral esta limitado en la industria alimentaria, ya que amerita controles enzimáticos eficientes, procedimientos de extracción adecuados y la utilización de atmósferas controladas [5, 6, 7, 10, 12].

Algunos autores han señalado diferencias en la composición, propiedades espectrales y el color en los diferentes cultivares de *B. vulgaris* [11, 14], razón por la cual resulta de interés el conocimiento sobre el comportamiento degradativo de betalainas en cultivares no investigados.

En la presente investigación se presentan resultados de los parámetros cinéticos de la degradación, cálculos de la constante k, tiempo de vida media de los compuestos betacianina y betaxantina aisladas individualmente a partir de raíces de remolacha (*B. vulgaris* cultivado en los Andes venezolanos), que permitan conocer la vida útil de estos pigmentos sin ser sometidos a ningún proceso de preservación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras

Se trasladaron raíces de remolacha (*Beta vulgaris* L.) (peso promedio $145,0 \pm 0,1$ g), adquiridas en un expendio comercial en el municipio Bejuma, estado Carabobo, Venezuela al laboratorio de Biomoléculas, municipio Canoabo. Los criterios de selección fueron: grado de madurez adecuado para el consumo, color homogéneo y sin rastros de deterioro. Todos los frutos fueron cosechados en el mes de noviembre-2000, cultivadas en la región andina de Venezuela. El transporte se efectuó mediante cavas de anime convencional acondicionadas con CO₂ (sólido). La temperatura alcanzada fue de $7,0 \pm 0,1$ °C. Las muestras fueron lavadas con agua corriente y secadas posteriormente con papel absorbente. Se cortaron con cuchillos de acero inoxidable en trozos de tamaño variable, para ser procesados mediante extractor de zumo (Marca EASTERN ELECTRIC, Modelo JX5000). El peso de las muestras (sin pericarpio) fue de $120,0 \pm 0,1$ g.

Purificación de los pigmentos

El extracto obtenido se aplicó mediante capilares sobre placas cromatograficas HPTLC de celulosa (HPTLC-Fertigschichten cellulose 10 X 10 cm, Merck, No. Cat. 5632), previamente activadas en estufa (MEMMER Modelo 400) a una temperatura de 90°C, el tiempo de corrida fue 30 minutos. Se efectuaron dos recorridos unidireccionales en dos sistemas independientes (TABLA I). Las aplicaciones se efectuaron mediante línea continua hasta saturación. El número de cromatoplasas utilizadas fue de seis.

La primera mezcla de solventes estuvo constituida por el sistema II y la segunda mezcla formada por el sistema I, según procedimiento descrito por Bilyk [2] para cromatoplasas TLC en celulosa. Las cromatoplasas fueron eluidas en el sistema II durante 1,20 h, en condiciones de oscuridad total y trasladadas a una estufa al vacío Marca THELCO Modelo 10 conectada a una bomba eléctrica (EMERSON, Modelo SA55JXGTD-4144, HP 1/6, No Cat.68X), acondicionado interiormente con $400,0 \pm 0,1$ g de CO₂ (sólido). Las condiciones de secado fueron: temperatura 5°C, Presión de vacío 5 inchHg y tiempo 25 minutos. Al finalizar el primer recorrido, las cromatoplasas se eluyeron en el sistema II durante 1 h. Se procedió nuevamente al secado en vacío descrito anteriormente.

Las fracciones fueron recuperadas mediante raspado de cada franja con espátula. Posteriormente fueron filtradas al vacío utilizando embudos de porcelana (PYREX USA, No. 36060, 15 mL, ASTM 10-15M), previa remoción con lavados de agua destilada a volúmenes de 10 mL. Los compuestos se recogieron directamente en celdas de spectronic totalmente a la oscuridad.

TABLA I
COMPOSICIÓN Y PROPORCIÓN DE LOS DOS
SISTEMAS DE SOLVENTES UTILIZADOS
EN LA CROMATOGRFÍA HPTLC

Solventes	Sistema I	Sistema II
2 propanol	55	30
etanol	20	35
agua	20	30
ácido acético	5	5

Evaluación espectroscópica (visible)

Las dos fracciones mayoritarias se evaluaron espectralmente en un rango de 400-580 nm, mediante SPECTRONIC 20 BAUSH & LOMB, a pH 6,1 contra un blanco de agua destilada.

Degradación cinética

Los pigmentos purificados se expusieron individualmente durante 38 h al efecto de luz blanca artificial. Las condiciones experimentales fueron: temperatura $25,0 \pm 0,1$ °C y pH 6,1. La degradación química de la betacianina y betaxantina fue seguida a través de mediciones de absorbancia a 537 y 465 nm respectivamente, en intervalos de 5 h sobre la base de los criterios propuestos por Cantillo *et al.* [4] se estableció orden de reacción en las cinéticas degradativas, tiempos de vida media ($t_{1/2}$) y constantes de velocidad (k), para los dos compuestos aislados.

Análisis estadístico

Modelos estadísticos fueron deducidos de los valores medios mediante análisis de regresión simple. El ajuste de los modelos estadísticos considerados se evaluó a través de análisis de los residuos y análisis de varianza ($P < 0,05$) [9].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los espectros visibles de los compuestos purificados se presentan en la FIG. 1, determinándose máximos a 537 y 465 nm, que corresponden a betacianina y betaxantina, respectivamente. Dicho comportamiento espectroscópico fue previamente establecido por otros autores [2, 3, 6,13].

En las FIGS. 2 y 3 se representa la degradación de la betacianina y betaxantina respectivamente. El $\ln(A_0/A)$ donde A_0 es la absorbancia en tiempo cero y A la absorbancia para cada medición en función del tiempo (h). Las gráficas obtenidas presentaron un comportamiento lineal entre las variables, lo que evidencia una degradación de primer orden. Resultado similar había sido señalado por otros autores [7, 11]. Las variaciones se ajustaron a los siguientes modelos estadísticos ($P < 0,05$):

$$\text{Betacianina: } A = 0,540 * e^{-0,0131t} \quad R^2 = 0,9637; \quad r = 0,9817$$

$$\text{Betaxantina: } A = 0,568 * e^{-0,0823t} \quad R^2 = 0,9904; \quad r = 0,9951$$

En la TABLA II se presentan los valores de constantes de velocidad (k), calculados como las pendientes de las gráficas antes señaladas, y los tiempos de vida media ($t_{1/2}=\ln 2/k$) de los dos compuestos evaluados. La betacianina mostró un valor de k: $13,1 \times 10^{-3} \text{ h}^{-1}$, la cual resulta superior a los establecidos por otros autores, en condiciones diferentes de pH y temperatura. Para la betaxantina el valor de k fue: $82,3 \times 10^{-3} \text{ h}^{-1}$, resultando superior a valores señalados por Sapers y Hornstein [7]. Los resultados indican que la betaxantina es más inestable, que la betacianina.

Los valores de k y $t_{1/2}$ obtenidos presentaron diferencias significativas ($P<0,05$). La degradación de la betaxantina resultó 6,28 veces más rápida que para la betacianina. Los resultados obtenidos en este estudio deben estar influenciados por factores como actividad de agua, fijación de oxígeno, especies químicas acompañantes que han sido analizadas por otros autores [1, 10, 11].

Los compuestos betalámicos presentan mayor estabilidad en intervalos de pH 3,5 a 7,0. En valores diferentes se ha reportado deterioro. Experimentalmente se determinó que el valor óptimo para las betacianinas es de 5,5 a 5,8 y para las betaxantinas 5,0 a 6,0 [7,10]. En esta investigación el pH de los pigmentos recuperados fue de 6,1, por lo cual permite suponer que esta variable no fue el valor más importante en el deterioro de los pigmentos, permitiendo proponer que esta familia de compuestos presentaría una mejor vida útil en alimentos con valores de pH neutro.

En relación a la influencia de la temperatura sobre la estabilidad de las betalainas se ha descrito que el calentamiento produce oscurecimiento oxidativo [1,7,10], razón por lo cual en un manejo eficiente de estos compuestos debe ser considerado como factor de deterioro. Experiencias señalados por Attoe y Von Elbe [10] describen que la degradación de las betalainas decrecen 15,6% después de la exposición en un día a la luz a temperatura de 15°C. Las cinéticas determinadas fueron similares a las reportadas en esta investigación para los pigmentos purificados. Estos mismos autores señalan que los extractos de betalainas a pH 3,0 presentan valores de k: $0,35 \text{ día}^{-1}$ y a pH 5,0 k: $0,11 \text{ día}^{-1}$, pero cuando son protegidas del efecto lumínico los valores de k disminuyen (k: $0,07 \text{ día}^{-1}$).

Los valores de tiempo de vida media confirman que la betaxantina se degrada con mayor rapidez. Considerando que el tiempo de vida media es el lapso necesario para que la concentración de algunos de los reaccionantes disminuya a la mitad [4], la betaxantina requirió 8,4 h para alcanzar esa condición, mientras la betacianina 53,0 h. Como la degradación de estos pigmentos mostró cinéticas de primer orden, los tiempos de vida media señalados son independientes de la concentración inicial [8]. De los modelos matemáticos se deduce que la concentración de cada pigmento tendera a cero en 304,5 h (12,60 d) para la betacianina y 49,1h (2,05 d) para la betaxantina.

Los resultados obtenidos en esta investigación para betalainas extraídas de raíces de remolacha de origen venezola-

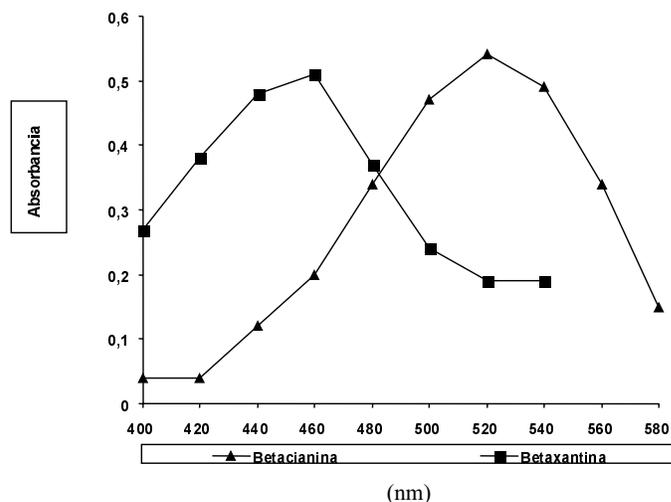


FIGURA 1. ESPECTROS VISIBLES DE BETACIANINA Y BETAXANTINA AISLADA DE REMOLACHA (*B. vulgaris* L.).

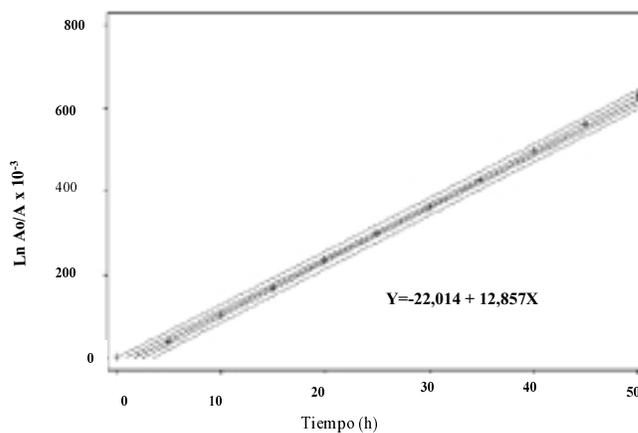


FIGURA 2. DEGRADACIÓN DE BETACIANINA.

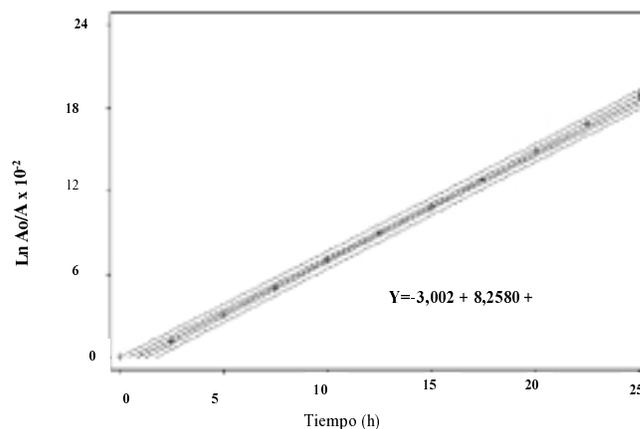


FIGURA 3. DEGRADACIÓN DE BETAXANTINA.

TABLA II
**CONSTANTES DE VELOCIDAD (K) DE DEGRADACIÓN Y TIEMPOS DE VIDA MEDIO PARA BETACIANINA Y BETAXANTINA
 (25,0 ± 0,1°C Y pH 6,1)**

Pigmentos	k (h) ⁻¹ X10 ⁻³	(d) ⁻¹ X 10 ⁻²	t _{1/2}	
			h	d
Betacianina	13,1 ^a	53,0 ^a	53,0 a	2,21 ^a
Betaxantina	82,3 ^b	8,4 ^b	8,46 b	0,35 ^b

Valores medios seguidos de letras diferentes en una misma columna representan diferencias significativas (P<0,05).

na, confirman que es necesario la aplicación de técnicas de preservación para aumentar su vida útil de los pigmentos purificados, que permitan su aprovechamiento adecuado en la industria alimentaria nacional.

CONCLUSIONES

Los dos compuestos evaluados presentan una cinética de primer orden. La betacianina se degrada mas lentamente (t_{1/2} 53 h; k: 13.1 x 10⁻³ h⁻¹) que la betaxantina (t_{1/2} 8,42 h; k: 82,3 x 10⁻³ h⁻¹). Bajo las condiciones experimentales de 25 ± 1°C y pH 6,1 los compuestos betacianina y betaxantina tenderán a valores de concentración cero al cabo de 304,5 h y 49,1 h respectivamente, lo que permite sugerir su utilización en alimentos de corta duración.

Los resultados obtenidos en este estudio confirman que las betalainas presentan degradación en corto tiempo, lo cual obliga a efectuar estudios que permitan aumentar la vida útil de los compuestos aislados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ATTOE, E.L.; VON ELBE, J.H. Oxygen involvement in betanine degradation: effect of antioxidants. **J. Food Sci.** 50:106-110. 1985.
- [2] BILYK, A. Extractive Fractionation of Betalaines. **J. Food Sci.** 44: 1249-1251.1979.
- [3] BILYK, A. Thin-Layer Chromatographic Separation of Beet pigments. **J. Food Sci.** 46:298-299. 1981.
- [4] CANTILLO, B., FERNANDEZ T.; NUÑEZ, M. **Durabilidad de los Alimentos. Métodos de estimación.** La Habana: Instituto de la Investigación para la Industria Alimenticia. 98 pp. 1994.
- [5] COHEN, E.; SAGUY, Y. Effect of water activity and moisture content on the stability of Beet powder pigments. **J. Food Sci.** 48:703-707.1983.
- [6] DELGADO-VARGAS, F.; JIMENEZ AR.; PAREDES-LÓPEZ., O. Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains - Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.** 40(3):173-289. 2000.
- [7] HUANG, A.S.; VON ELBE J.H. Kinetics of the degradation and regeneration of Betanine. **J. Food Sci.** 50: 1115-1120. 1985.
- [8] MARON, S.H.; PRUTTON. C.F. **Fundamentos de Físico-química.** 2^{da} ed. México: Editorial Limusa. 900 pp. 1998.
- [9] MONTGOMERY, D.C. **Diseño y Análisis de Experimentos.** 1^{era} ed. México: Grupo Editorial Iberoamérica. 589 p. 1998.
- [10] SAGUY, Y.; GOLDMAN M.; BORD, A.; COHEN, E. Effect of oxygen retained of beet powder on the stability of betanine and vulgaxantine-Z. **J. Food Sci.** 49: 99-101. 1984.
- [11] SAPERS, G.M.; HORSTEIN. J.S. Varietals Differences in Colorant properties and stability of red Beet Pigments. **J. Food Sci.** 44: 245-1248. 1979.
- [12] VILORIA-MATOS, A.; CORBELLI-MORENO, D. Evaluación del contenido y estabilidad de betalainas en pulpa del fruto de *Opuntia boldinghii* Br. Et R. (Tesis de Ingeniería de Alimentos). Laboratorio de Biomoléculas, Universidad Simón Rodríguez. Canoabo-Venezuela.
- [13] VILORIA-MATOS, A.; MORENO-ALVAREZ, M.J.; HIDALGO-BAEZ, D. Isolation and identification of Betacyanin from fruits of *Opuntia boldinghii* Br. et R. by HPTLC. **Cienc. Tecnol. Aliment.** 3 (3):140-143.2001.
- [14] WILEY, R.; LEE, Y.; SALADINI, J.J.; WYSS, R.; TOPALIAN, H. Efficiency studies of a continues diffusion apparatus for the recovery of betalaines from the red table beet. **J. Food Sci.** 44: 208-212. 1979.