

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO**



**FACULTAD DE QUÍMICA**



**“EFECTO DEL PROCESAMIENTO TÉRMICO SOBRE EL CONTENIDO DE  
BETALAINAS Y LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL BETABEL (*Beta vulgaris*  
L.)”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
QUÍMICO EN ALIMENTOS**

**PRESENTA:**

**ALMA GABRIELA CASTRO MIRANDA**

**ASESOR ACADÉMICO:**

**DRA. LETICIA XOCHITL LÓPEZ MARTÍNEZ**

**ASESOR ADJUNTO**

**DR. OCTAVIO DUBLÁN GARCÍA**

**TOLUCA, MÉXICO**

**OCTUBRE 2014**

*“ Tal vez no existen los buenos y los malos amigos; tal vez sólo hay amigos, gente que nos apoya cuando sufrimos y que nos ayuda a no sentirnos tan solos. Tal vez siempre vale la pena sentir miedo por ellos, y esperanzas, y vivir por ellos. Tal vez también valga la pena morir por ellos, si así debe ser. No hay buenos amigos ni malos amigos, sólo personas con las que uno quiere estar, necesita estar; gente que ha construido su casa en nuestro corazón.”*

**-Stephen King, IT.**

## AGRADECIMIENTOS

Gracias a la Universidad Autónoma del Estado de México, que como la máxima casa de estudios de este estado, me permitió revalidar mis estudios para continuar con mi desarrollo profesional.

Gracias a la Facultad de Química por forjarme día a día.

Gracias a mis profesores; quienes aportaron su conocimiento en las aulas en las distintas materias que nos impartieron.

Gracias papá por siempre alentarme a continuar y ser una mejor persona cada día, por tus desvelos, tus consejos, y lo más importante por confiar en mí siempre.

Gracias mamá por ser ese pilar que siempre me sostuvo y me aterriza, por tu buen humor y por tus deseos.

Gracias Dra. Leticia Xochitl López Martínez por ser la indicada para que lleváramos este trabajo a flote, por su apoyo, por sus consejos, sus regaños y su dedicación, y por creer que yo era más capaz de lo que sentía.

Al Dr. Octavio Dublán García por sus atenciones en la realización de este trabajo, y sobre todo por esas observaciones tan puntuales que lo caracterizan, y por ser tan amable siempre.

Al laboratorio Manejo Poscosecha del Instituto Tecnológico de Veracruz por el apoyo para la realización de las determinaciones de la capacidad antioxidante del presente trabajo.

Al Dr. Juan Orozco Villafuerte, por sus valiosas observaciones, apoyo y por su amistad.

A la Dra. Laura Sánchez Paz, por unirse a la conclusión de éste trabajo y por sus buenos deseos.

A la Dra. Daniela Saucedo Reyes, por compartir sus conocimientos y puntualizar mi proyecto.

A la Universidad Autónoma de Sinaloa, por permitirme iniciar mis estudios como Químico Farmacéutico Biólogo, y enseñarme la base de toda Química.

Al Consejo Nacional de Fomento Educativo (CONAFE), por enseñarme la calidad humana de la gente a través de su programa de Instructores Comunitarios y por brindarme una beca para continuar con mis estudios profesionales.

A mi amiga Olga Daniela Rivera Lovera, en quién he encontrado un gran apoyo emocional e incondicional, gracias por tus buenos deseos y por confiar en mí.

A la mujer con quien compartí los mejores años dentro de la carrera, risas, lagrimas, desvelos, trabajos y estrés, quien gracias a Dios hoy está a punto de tener la dicha de ser madre, y a quien le agradezco el cariño que siempre he recibido de su parte, de su esposo y de sus padres, gracias, Martha Angélica Navarro Montoya y familia.

A mi amigo-colega José Martín Zapién Macías del Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Zamora, quien es una gran persona y un ejemplo a seguir, y a través de sus consejos y buenos deseos me impulso a no desalentarme y concluir con éste proyecto, gracias por escuchar.

A Yeraldin González Mendoza, por su amistad y por ser quien siempre me apoya, me escucha, me hace reír y confía en mí.

A mis padrinos de toda la vida, Guillermina Desilagua García e Isaac Villegas Gutierrez, por sus buenos deseos y por su cariño.

A todos mis amigos que me dieron ánimo de continuar y concluir con la realización de este proyecto.

A todas las personas que directa e indirectamente apoyaron en parte a la realización de este trabajo.

A todos gracias.

***A Pablo Castro Díaz y  
María Teresa Miranda Berny.***



## Índice

Índice.....	1
Índice de tablas. ....	4
Índice de figuras. ....	6
Resumen. ....	9
Introducción. ....	10
Capítulo 1. Marco teórico. ....	11
1.1. Información general del betabel. ....	12
1.1.1. Características físico-químicas del betabel. ....	12
1.1.2. Propiedades antioxidantes del betabel. ....	14
1.2. Antioxidantes y el betabel. ....	14
1.2.1. Generalidades de los antioxidantes. ....	15
1.2.1.1. Métodos de cuantificación de antioxidantes. ....	15
1.2.1.1.1. Compuestos fenólicos totales. ....	16
1.2.1.1.2. Método ABTS• <sup>+</sup> 2,2'-Azino-bis (3-etilenbenzotiazolino-6-ácido sulfónico)..	19
1.2.1.1.3. Método DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidracilo).....	20
1.2.2. Fuentes de obtención de los antioxidantes. ....	21
1.3. Betalainas. ....	21
1.3.1. Características físico-químicas de las betalainas.....	21
1.3.2. Estabilidad de las betalainas. ....	23
1.3.2.1. Estructura y composición.....	23
1.3.2.2. Actividad de agua (a <sub>w</sub> ). ....	23
1.3.2.3. Temperatura. ....	23
1.3.3. Propiedades de las betalainas. ....	24
Objetivos e hipótesis.....	25
Capítulo 2. Metodología. ....	28
2.1. Obtención de materia prima. ....	29
2.2. Procesamientos térmicos de las muestras de betabel.....	29
2.2.1. Procesamiento térmico: escaldado para pulpa, escaldado para cáscara y escaldado para pulpa-cáscara. ....	29
2.2.2. Procesamiento térmico: tostado para pulpa, tostado para cáscara y tostado para pulpa-cáscara. ....	29

2.2.3. Procesamiento térmico: escaldado-tostado para pulpa, escaldado-tostado para cáscara y escaldado-tostado para pulpa-cáscara.....	30
2.3. Método de extracción de betalainas. ....	30
2.4. Determinación de la concentración de betalainas totales.....	30
2.5. Determinación de compuestos fenólicos totales.....	31
2.6. Determinación de la actividad antioxidante.....	32
2.6.1. ABTS•+ 2,2'-Azino-bis (3-etilenbenzotiazolino-6-ácido sulfónico).....	32
2.6.2. DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidracilo). ....	32
2.7. Análisis estadístico.....	33
Capítulo 3. Resultados y discusión. ....	34
3.1. Procesamientos térmicos de las muestras de betabel.....	35
3.1.1. Procesamiento térmico: escaldado para pulpa, escaldado para cáscara y escaldado para pulpa-cáscara. ....	36
3.1.2. Procesamiento térmico: tostado para pulpa, tostado para cáscara y tostado para pulpa-cáscara. ....	36
3.1.3. Procesamiento térmico: escaldado-tostado para pulpa, escaldado-tostado para cáscara y escaldado-tostado para pulpa-cáscara.....	37
3.2. Análisis preliminar: 9 Tratamientos (pulpa escaldada, cáscara escaldada, pulpa-cáscara escaldada, pulpa tostada, cáscara tostada, pulpa-cáscara tostada, pulpa escaldada-tostada, cáscara escaldada-tostada y pulpa-cáscara escaldada-tostada). ....	37
3.2.1. Determinación de betacianinas, betaxantinas y betalainas totales.....	37
3.2.2. Determinación de compuestos fenólicos totales.....	41



3.3 Análisis de las muestras con mayor contenido de betalainas totales: cáscara tostada, pulpa-cáscara tostada y cáscara escaldada-tostada.....	44
3.3.1. Determinación de la concentración de betacianinas, betaxantinas y betalainas totales. ....	44
3.3.2. Determinación de compuestos fenólicos totales.....	47
3.3.3. Determinación de la actividad antioxidante total por el método ABTS•+ y DPPH•.....	48
3.3.4. Relación entre el contenido de betalainas totales y compuestos fenólicos totales, con las distintas actividades antioxidantes.....	52
Capítulo 4. Conclusiones.....	54
Sugerencias. ....	56
Referencias. ....	58
Anexos. ....	65
Anexo A. Método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu.....	66
Anexo B. Contenido de betacianinas, betaxantinas, betalainas totales, compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de las diferentes muestras de betabel evaluadas.....	69
Anexo C. ANOVA de comparación de medias entre los diferentes tratamientos aplicados a las muestras de betabel. ....	72

## Índice de tablas

Tabla 1. Composición fitoquímica del betabel.....	13
Tabla 2. Ensayos <i>in vitro</i> de la capacidad antioxidante.....	16
Tabla 3. Coeficiente de correlación (r) entre métodos.....	53
Tabla 4. Curva de calibración para la determinación de compuestos fenólicos totales.....	67
Tabla 5. Cuantificación en los extractos de compuestos fenólicos totales.....	68
Tabla 6. Contenido de betacianinas, betaxantinas y betalainas totales después de los tratamientos térmicos (PE: pulpa escaldada; CE: cáscara escalda; PCE: pulpa y cáscara escaldada; PT: pulpa tostada; CT: cáscara tostada; PCT: pulpa y cáscara tostada; PET: pulpa escaldada-tostada; CET: cáscara escaldada-tostada; y PCET: pulpa y cáscara escaldada-tostada) en las muestras de betabel.....	69
Tabla 7. Contenido de compuestos fenólicos totales (CFT) después de los tratamientos térmicos (PE: pulpa escaldada; CE: cáscara escalda; PCE: pulpa y cáscara escaldada; PT: pulpa tostada; CT: cáscara tostada; PCT: pulpa y cáscara tostada; PET: pulpa escaldada-tostada; CET: cáscara escaldada-tostada; y PCET: pulpa y cáscara escaldada-tostada) en las muestras de betabel.....	70
Tabla 8. Contenido de betacianinas, betaxantinas y betalainas totales después de los tratamientos térmicos (CT: cáscara tostada; PCT: pulpa-cáscara tostada y CET: cáscara escaldada-tostada) en las muestras de betabel.....	70
Tabla 9. Contenido de compuestos fenólicos totales (CFT) después de los tratamientos térmicos (CT: cáscara tostada; PCT: pulpa-cáscara tostada y CET: cáscara escaldada-tostada) en las muestras de betabel.....	71
Tabla 10. Actividad antioxidante después de los tratamientos térmicos (CT: cáscara tostada; PCT: pulpa-cáscara tostada y CET: cáscara escaldada-tostada) en las muestras de betabel por el método ABTS <sup>•+</sup> y DPPH <sup>•</sup> .....	71
Tabla 11. Análisis de varianza (ANOVA) de los tratamientos (PE: pulpa escaldada; CE: cáscara escalda; PCE: pulpa y cáscara escaldada; PT: pulpa tostada; CT: cáscara tostada; PCT: pulpa y cáscara tostada; PET: pulpa escaldada-tostada; CET: cáscara escaldada-tostada; y PCET: pulpa y cáscara escaldada-tostada).....	72
Tabla 12. Comparación de medias por el método Tukey para BC (betacianinas) de los tratamientos (PE: pulpa escaldada; CE: cáscara escalda; PCE: pulpa y cáscara escaldada; PT: pulpa tostada; CT: cáscara tostada; PCT: pulpa y cáscara tostada; PET: pulpa escaldada-tostada; CET: cáscara escaldada-tostada; y PCET: pulpa y cáscara escaldada-tostada).....	73
Tabla 13. Comparación de medias por el método Tukey para BX (betaxantinas) de los tratamientos (PE: pulpa escaldada; CE: cáscara escalda; PCE: pulpa y cáscara escaldada; PT: pulpa tostada; CT: cáscara tostada; PCT: pulpa y cáscara tostada; PET: pulpa	

escaldada-tostada; CET: cáscara escaldada-tostada; y PCET: pulpa y cáscara escaldada-tostada).....74

Tabla 14. Comparación de medias por el método Tukey para BT (betalainas totales) de los tratamientos (PE: pulpa escaldada; CE: cáscara escaldada; PCE: pulpa y cáscara escaldada; PT: pulpa tostada; CT: cáscara tostada; PCT: pulpa y cáscara tostada; PET: pulpa escaldada-tostada; CET: cáscara escaldada-tostada; y PCET: pulpa y cáscara escaldada-tostada).....74

Tabla 15. Comparación de medias por el método Tukey para CFT (compuestos fenólicos totales) de los tratamientos (PE: pulpa escaldada; CE: cáscara escaldada; PCE: pulpa y cáscara escaldada; PT: pulpa tostada; CT: cáscara tostada; PCT: pulpa y cáscara tostada; PET: pulpa escaldada-tostada; CET: cáscara escaldada-tostada; y PCET: pulpa y cáscara escaldada-tostada).....75

Tabla 16. Análisis de varianza (ANOVA) de los 3 tratamientos (CT: cáscara tostada; PCT: pulpa-cáscara tostada y CET: cáscara escaldada-tostada).....76

Tabla 17. Comparación de medias por el método Tukey para BC (betacianinas) de los 3 tratamientos (CT: cáscara tostada; PCT: pulpa-cáscara tostada y CET: cáscara escaldada-tostada).....77

Tabla 18. Comparación de medias por el método Tukey para BX (betaxantinas) de los 3 tratamientos (CT: cáscara tostada; PCT: pulpa-cáscara tostada y CET: cáscara escaldada-tostada).....77

Tabla 19. Comparación de medias por el método Tukey para BT (betalainas totales) de los 3 tratamientos (CT: cáscara tostada; PCT: pulpa-cáscara tostada y CET: cáscara escaldada-tostada).....77

Tabla 20. Comparación de medias por el método Tukey para CFT (compuestos fenólicos totales) de los 3 tratamientos (CT: cáscara tostada; PCT: pulpa-cáscara tostada y CET: cáscara escaldada-tostada).....78

Tabla 21. Comparación de medias por el método Tukey para ABTS<sup>•+</sup> de los 3 tratamientos (CT: cáscara tostada; PCT: pulpa-cáscara tostada y CET: cáscara escaldada-tostada).....78

Tabla 22. Comparación de medias por el método Tukey para DPPH<sup>•</sup> de los 3 tratamientos (CT: cáscara tostada; PCT: pulpa-cáscara tostada y CET: cáscara escaldada-tostada).....78

## Índice de figuras

Figura 1. Estructura botánica del betabel ( <i>Beta vulgaris</i> ).....	12
Figura 2. ABTS y su producto de oxidación de un electrón, ABTS <sup>•+</sup> .....	20
Figura 3. Reacción química entre el radical DPPH <sup>•</sup> y la especie antioxidante.....	21
Figura 4. Estructura general del a) ácido betalámico, b) betaxantinas y c) betacianinas.....	22
Figura 5. Extractos etanólicos del betabel. ....	35
Figura 6. Contenido de betacianinas (BC) de los 9 tratamientos (PE: pulpa escaldada; CE: cáscara escaldada; PCE: pulpa y cáscara escaldada; PT: pulpa tostada; CT: cáscara tostada; PCT: pulpa y cáscara tostada; PET: pulpa escaldada-tostada; CET: cáscara escaldada-tostada; y PCET: pulpa y cáscara escaldada-tostada). ....	38
Figura 7. Contenido de betaxantinas (BX) de los 9 tratamientos (PE: pulpa escaldada; CE: cáscara escaldada; PCE: pulpa y cáscara escaldada; PT: pulpa tostada; CT: cáscara tostada; PCT: pulpa y cáscara tostada; PET: pulpa escaldada-tostada; CET: cáscara escaldada-tostada; y PCET: pulpa y cáscara escaldada-tostada). ....	39
Figura 8. Contenido de betalainas totales (BT) de los 9 tratamientos (PE: pulpa escaldada; CE: cáscara escaldada; PCE: pulpa y cáscara escaldada; PT: pulpa tostada; CT: cáscara tostada; PCT: pulpa y cáscara tostada; PET: pulpa escaldada-tostada; CET: cáscara escaldada-tostada; y PCET: pulpa y cáscara escaldada-tostada). ....	41
Figura 9. Contenido de compuestos fenólicos totales (CFT) de los 9 tratamientos (PE: pulpa escaldada; CE: cáscara escaldada; PCE: pulpa y cáscara escaldada; PT: pulpa tostada; CT: cáscara tostada; PCT: pulpa y cáscara tostada; PET: pulpa escaldada-tostada; CET: cáscara escaldada-tostada; y PCET: pulpa y cáscara escaldada-tostada).....	43
Figura 10. Contenido de betacianinas (BC) de los 3 tratamientos (CT: cáscara tostada; PCT: pulpa-cáscara tostada y CET: cáscara escaldada-tostada).....	45
Figura 11. Contenido de betaxantinas (BX) de los 3 tratamientos (CT: cáscara tostada; PCT: pulpa-cáscara tostada y CET: cáscara escaldada-tostada).....	46
Figura 12. Contenido de betalainas totales (BT) de los 3 tratamientos (CT: cáscara tostada; PCT: pulpa-cáscara tostada y CET: cáscara escaldada-tostada).....	47
Figura 13. Contenido de compuestos fenólicos totales (CFT) de los 3 tratamientos (CT: cáscara tostada; PCT: pulpa-cáscara tostada y CET: cáscara escaldada-tostada). ....	48
Figura 14. Actividad antioxidante por el método ABTS <sup>•+</sup> de los 3 tratamientos (CT: cáscara tostada; PCT: pulpa-cáscara tostada y CET: cáscara escaldada-tostada).....	49

Figura 15. Actividad antioxidante por el método DPPH• de los 3 tratamientos (CT: cáscara tostada; PCT: pulpa-cáscara tostada y CET: cáscara escaldada-tostada).....50

Figura 16. Curva de calibración para la determinación de compuestos fenólicos totales.  
.....67

**“Efecto del procesamiento térmico sobre el contenido de betalainas y la actividad antioxidante del betabel (*Beta vulgaris* L.)”**

## Resumen

El betabel (*Beta vulgaris* L.) es generalmente procesado antes de su consumo, lo cual influye en la estabilidad de las betalainas, afectando el contenido de compuestos con actividad antioxidante. El objetivo de este estudio fue investigar la influencia de métodos de procesamiento como escaldado, tostado y escaldado-tostado en muestras de betabel. El impacto del procesamiento fue evaluado en nueve muestras sometidas a diferentes tratamientos térmicos (pulpa escaldada, cáscara escaldada, pulpa y cáscara escaldada, pulpa tostada, cáscara tostada, pulpa y cáscara tostada, pulpa escaldada-tostada, cáscara escaldada-tostada y pulpa y cáscara escaldada-tostada) con base al contenido de betalainas totales (betacianinas y betaxantinas) y al contenido de compuestos fenólicos totales. Los resultados mostraron que el tratamiento cáscara tostada reportó un contenido mayor de betalainas y compuestos fenólicos totales comparado con los demás tratamientos, esto debido a que los compuestos presentes en el betabel (azúcares reductores) cuando son sometidos a tratamientos con calor, forman colores oscuros en las muestras y por ende en los extractos, que se deben a reacciones de pardeamiento no enzimático, dando como resultado melanoidinas coloreadas. Sin embargo, se encontró un descenso en el contenido de betalainas en los demás tratamientos.

Dado que el contenido de betalainas totales está ampliamente relacionado con la capacidad antioxidante, se determinó el contenido de betalainas totales, los compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante; por los métodos ABTS<sup>•+</sup> y DPPH<sup>•</sup>, para tres tratamientos cáscara tostada, pulpa-cáscara tostada y cáscara escaldada-tostada. Los resultados mostraron que con el tratamiento cáscara tostada se obtiene la mayor concentración de betalainas y compuestos fenólicos totales, en comparación con los otros tratamientos. En la actividad antioxidante el tratamiento cáscara tostada mostró un 74.4% y 78.9% de inhibición del radical ABTS<sup>•+</sup> y DPPH<sup>•</sup>, respectivamente.

En general los tratamientos térmicos disminuyen el contenido de betalainas, los compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante, sin embargo, el tratamiento cáscara tostada, reportó un contenido de betalainas mayor, al igual que de compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante de las muestras evaluadas.

## Introducción

El betabel pertenece a la familia *Chenopodiaceae* y su nombre botánico es *Beta vulgaris* L. Es una planta bienal; florece y produce semilla en el segundo año, excepto bajo condiciones especiales (Casseres, 1980). Es rico en fibra (2.9%) como en azúcares (6.6%), con un valor calórico moderado 42.6 cal/100g de producto fresco. Posee un contenido de vitamina A (1%), Calcio (2%), vitamina C (11%) y Hierro (6%) (Data, 2013). No se considera un vegetal popular de consumo, sin embargo, es una excelente fuente de betalainas, que son pigmentos rojos y amarillos que los caracterizan (Lee y col., 2005).

La capacidad antioxidante del betabel se encuentra asociada a la presencia de betalainas (Czapski y col., 2009). Las betalainas pueden encontrarse en una variedad de especies y tejidos, pero el betabel y los frutos de cactus pertenecientes al género *Opuntia*, son las mayores fuentes alimenticias de estos compuestos. Éstas exhiben una actividad antioxidante y una capacidad de captación de radicales libres alta (Gandía-Herrero y col., 2012), si se incorporan a la dieta, éstas pueden proteger a las células de la acción de los radicales libres y evitar la hemólisis oxidativa en los glóbulos rojos (Azeredo, 2009). Lee y col. (2005) y Azeredo (2009), encontraron que las betalainas tienen la capacidad de inducir a la enzima quinona reductasa, la cual es considerada la principal enzima protectora contra diversos tipos de cáncer.

Los antioxidantes son sustancias que actúan protegiendo al organismo de la acción de los radicales libres, causantes de los procesos de envejecimiento y de algunas enfermedades degenerativas. Los radicales libres son moléculas, con átomos que tienen un electrón en capacidad de aparearse, por lo que son muy reactivos. Estos radicales recorren el organismo intentando captar un electrón de las moléculas estables, con el fin de lograr su estabilidad electroquímica y con potenciales reacciones en cadenas destructoras de las células del cuerpo (Gutiérrez y col., 2007). Los radicales libres pueden dañar biomoléculas tales como lípidos, ácidos nucleicos y proteínas, causando peroxidación en las membranas celulares (Leopoldini y col., 2011).

Las propiedades colorantes naturales de las betalainas y la ausencia de su toxicidad sugieren un uso extenso de las betalainas como aditivos en la industria alimentaria. Esta contribución inicia un nuevo enfoque para la química de betalainas, especialmente en el ámbito de sus propiedades antioxidantes (Wybraniec y Michalowski, 2011).



# Capítulo 1.

## Marco teórico

## 1.1. Información general del betabel

El betabel se cultiva principalmente en Europa, algunas partes de Asia y Estados Unidos. El consumo de betabel en México es bajo, donde se aprovecha principalmente para ensaladas y jugos. Es la fuente principal de obtención de betalainas (De Azeredo y col., 2009; Tong y col., 2011) y es uno de los productos más utilizados debido a su alto contenido de uno de sus componentes, las betacianinas; lo que permite obtenerlas a nivel industrial. En la figura 1 se muestra la estructura botánica del betabel.



Figura 1. Estructura botánica del Betabel (*Beta vulgaris* L.).  
Fuente: <http://www.clubdevegetales.com/Betabel>

### 1.1.1. Características físico-químicas del betabel.

El betabel está considerado como una hortaliza de raíz, aunque en realidad se trata de un “tallo engrosado bulboso”, y constituye un órgano de almacenamiento, principalmente de azúcares y almidones, también las hojas del betabel cocidas son comestibles. El sistema de raíces es muy profundo y ramificado; el tallo floral puede alcanzar una altura de 1 a 1.3 m; presenta flores hermafroditas, con estambres y pistilos pudiendo aparecer solas o en grupos (panícula) apretados de dos o tres; las hojas son de color verde intenso y los pecíolos son de color rojo o púrpura.

Es una planta de clima frío, aunque se puede explotar en clima cálido. La temperatura de germinación es de 10 a 30°C, siendo la óptima entre 20 y 25°C, la temperatura para el desarrollo es de 16 a 21°C. Esta hortaliza tolera bien las heladas, a temperaturas mayores de 25°C se forman anillos concéntricos de color blanco en el tallo bulboso y baja el contenido de azúcares. El betabel es sensible a suelos ácidos, se desarrolla mejor en suelos

neutros y alcalinos, prefiriendo un pH de 6.5 a 7.5, es totalmente tolerante a la salinidad; en cuanto a textura, se desarrolla mejor en suelos ligeros (arenosos) ya que en suelos arcillosos se deforman los bulbos.

Para la cosecha se utilizan tres indicadores; uno que implica conocer el diámetro del bulbo (entre 8 y 10 cm) y otro es el tiempo en días, 60 a 80 días para cultivares precoces, 80 a 100 días para intermedios y 100 a 110 para tardíos (SAGARPA, 2013), y finalmente, la madurez de cosecha, lo que implica que los bulbos se cosechan cuando las raíces han alcanzado el tamaño deseable (UC Davis, 2014).

En la tabla 1 se presenta la composición fitoquímica del betabel, formada principalmente por betalainas, conjugados del ácido felúrico, amidas fenólicas y flavonoides.

**Tabla 1. Composición fitoquímica del betabel.**

<b>Clasificación</b>	<b>Compuestos</b>
<b>1. Betalainas</b>	
<b>1.1. Betaxantinas</b>	Vulgaxantina I
	Vulgaxantina II
<b>1.2. Betacianinas</b>	Betanina
	Isobetanina
<b>2. Conjugados del ácido felúrico</b>	5,5',6,6'-tetrahidroxi-3,3'-biindolil
	Feruloilglucosa
	$\beta$ -d-fructofuranosil- $\alpha$ -d-(6-O-(E)-feruloilglucopiranosido)
<b>3. Amidas fenólicas</b>	N-trans-feruloiltiramina
	N-trans-feruloilhomovanililamina
<b>4. Flavonoides</b>	Betagarina
	Betavulgarina
	Coclofilin A
	Dihidroisoramnetina

Fuente: (Wootton-Beard y col., 2011)

### **1.1.2. Propiedades antioxidantes del betabel.**

El jugo del betabel contiene un alto nivel biológico accesible de antioxidantes. Sin embargo, su consumo no es tan popular como el de otros vegetales como el jitomate, la zanahoria, la manzana o el mango, tal vez por los problemas de percepción de sabor y textura, además de que genera coloración en la orina (Ravichandran y col., 2011; Wootton-Beard y col., 2011).

El betabel posee pigmentos que pertenecen al grupo de los antioxidantes. Las principales fuentes vegetales de betalainas son las raíces de *Beta vulgaris*, el tallo de *Amaranthus* y los frutos de las especies del género *Opuntia* (Moreno y col., 2007; Czapski y col., 2009).

Los pigmentos más abundantes en el betabel son las betalainas, que son químicamente definidas como derivados del ácido betalámico (figura 4). La capacidad antioxidante del jugo del betabel está fuertemente relacionado con la cantidad de pigmentos rojos y amarillos, que conforman a las betalainas (Czapski y col., 2009), así como del alto contenido de compuestos fenólicos totales (Czapski y col., 2009; Wootton-Beard y col., 2011).

### **1.2. Antioxidantes y el betabel.**

Un antioxidante es una molécula que previene la formación descontrolada de radicales libres o inhiben sus reacciones con estructuras celulares (proteínas, carbohidratos, lípidos y ADN). Como parte del envejecimiento normal del organismo humano se producen un número considerable de sustancias químicamente inestables, llamadas especies reactivas de oxígeno que en su mayoría son radicales libres. El daño oxidativo que estas especies pueden producir en las células es de consecuencias críticas para su función, por lo que se le asocia con el desarrollo de numerosas patologías y enfermedades degenerativas como el cáncer y la diabetes.

Además de las defensas endógenas del organismo contra el daño oxidativo (enzimas y coenzimas superóxido dismutasas, catalasa, peroxidasas GSH y el ácido úrico), la ingesta de moléculas antioxidantes puede neutralizar la producción y exposición a los radicales libres y disminuir los efectos adversos de las especies reactivas del oxígeno en el cuerpo humano. Los antioxidantes de origen exógeno pueden ser de naturaleza diversa, como la vitamina C, la vitamina E, carotenoides, flavonoides, principalmente. Estos difieren unos de

otros tanto en su mecanismo como en su sitio de acción. Existe evidencia científica de que los compuestos antioxidantes de frutas y vegetales pueden prevenir el daño oxidativo en las células, con lo que se reduce el riesgo de cáncer, enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas y diabetes, entre otras (Sumaya-Martínez y col., 2010).

El equilibrio entre la producción de especies reactivas del oxígeno (EROs) y especies reactivas de nitrógeno (ERNs), son denominados colectivamente como “RONS”, por lo que los mecanismos de protección contra ellos se consideran importantes para preservar la salud. Algunos RONS biológicos son, el anión superóxido ( $O_2^-$ ), radical hidróxilo ( $OH^\cdot$ ), óxido nítrico ( $NO^\cdot$ ) y el radical peroxinitrito ( $ONOO^\cdot$ ). Los antioxidantes son responsables de regular estas acciones cuando no son benéficas. Los RONS pueden causar daño a las membranas lipídicas (a través de la peroxidación lipídica), proteínas (a través de la S-nitrosilación) y al ADN (mediante la oxidación nucleótida), mientras que los antioxidantes por su parte, pueden inhibir directamente el daño causado por éstas reacciones proliferativas, al brindar el electrón necesario para estabilizar a los RONS sin que vuelvan a ser reactivos (Wootton-Beard y col., 2011).

Es así como, el interés específico del betabel ha surgido debido a que éste posee compuestos con actividad antioxidante (Wootton-Beard y col., 2011), y es uno de los 10 vegetales con mayor capacidad antioxidante, debido a su alto contenido de betalainas (Kujala y col., 2000).

### **1.2.1. Generalidades de los antioxidantes**

#### **1.2.1.1. Métodos de cuantificación de antioxidantes**

La actividad antioxidante de frutos puede evaluarse *in vitro* e *in vivo* con base a las reacciones químicas involucradas, pueden dividirse además en dos categorías:

- Basados en la transferencia de un átomo de hidrógeno, donde el antioxidante y el sustrato compiten por el radical libre sintético, una molécula oxidable y un antioxidante (Leyva, 2009).
- Basados en la transferencia de electrones: involucran una reacción de oxidación con el antioxidante que es un indicador del punto final de la misma (Leyva, 2009).

En la tabla 2 se muestran los métodos según la reacción utilizada para la cuantificación de la actividad antioxidante.

**Tabla 2. Ensayos *in vitro* de la capacidad antioxidante.**

<b>Mecanismo</b>	<b>Método</b>
<b>Por transferencia de un átomo de hidrógeno</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ ORAC (del inglés <i>Oxygen radical absorbance capacity</i>)</li> <li>➤ TRAP (del inglés <i>Total radical trapping antioxidant parameter</i>)</li> <li>➤ IOU (del inglés <i>Inhibited oxygen uptake</i>)</li> </ul>
<b>Por transferencia de electrones</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ TEAC (del inglés <i>Trolox equivalent antioxidant capacity</i>)</li> <li>➤ FRAP (del inglés <i>Ferric ion reducing antioxidant parameter</i>)</li> <li>➤ DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidracilo)</li> <li>➤ ABTS•+ 2,2'-Azino-bis (3-etilenbenzotiazolino-6-ácido sulfónico)</li> </ul>
<b>Otros</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ TOSC (del inglés <i>total oxidant scavenging capacity</i>)</li> </ul>

Fuente: (Huang y col., 2005)

#### 1.2.1.1.1. Compuesto fenólicos totales

El término compuestos fenólicos totales engloba a todas aquellas sustancias que poseen varias funciones fenol, unidos a estructuras aromáticas o alifáticas (Gimeno, 2004). Se trata de un amplio grupo de compuestos producto del metabolismo secundario de las plantas, que usan como protección o pigmentación (Jiménez, 2007). Estas sustancias influyen en la calidad, aceptabilidad y estabilidad de los alimentos, ya que actúan como colorantes y antioxidantes (Gimeno, 2004).

Los compuestos fenólicos totales pueden actuar como antioxidantes mediante dos mecanismos principales:

- a) Como captadores de radicales libres: actúan como donantes de hidrógeno o electrones en reacciones de terminación que rompen el ciclo de generación de nuevos radicales libres, deteniendo las reacciones en cadena en las que están implicados los radicales libres, el radical fenoxilo generado es menos reactivo dado que se estabiliza por resonancia con los electrones “p” del anillo aromático (Leyva, 2009).

- b) Como quelantes de metales: requiere la presencia de grupos hidroxilos cercanos en el anillo aromático, de este modo, los o-dihidroxifenoles son secuestradores efectivos de iones metálicos e inhiben la generación de radicales libres al formar complejos con metales di o trivalentes, especialmente con el hierro y el aluminio (Gimeno, 2004).

Sin embargo, existen otros factores que afectan la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos totales, como el número y posición de grupos hidroxilo, la presencia de azúcares unidos a ellos y el grado de polimerización (Leyva, 2009).

Es importante considerar las estructuras fenólicas que presentan una mayor capacidad antioxidante *in vitro*, no necesariamente la tendrán *in vivo*; de la misma forma, los compuestos fenólicos totales más abundantes en los alimentos no son necesariamente los más absorbidos (Jiménez, 2007).

Entre los métodos comúnmente usados en alimentos para determinar el contenido de compuestos fenólicos totales, destacan:

- Ensayo de la vainillina

El ensayo de la vainillina es usado comúnmente para determinar polifenoles en alimentos, destacando la determinación de compuestos flavan-3-ol, dihidrochalconas y proantocianidinas que tienen una unión simple en la posición 2,3 y poseen grupos hidroxilos en la posición meta del anillo B.

El método de la vainillina se usa ampliamente para la cuantificación de proantocianidinas (taninos condensados) en frutas y granos. El ensayo de la vainillina es específico para flavan-3-ol, dihidrochalconas y proantocianinas, las cuales tienen un enlace simple en la posición 2,3 y poseen grupos hidroxilos en la posición *meta* del anillo B. La catequina es un flavan-3-ol monomérico frecuentemente usado como un estándar en el ensayo de la vainillina. El metanol, disolvente usado para el ensayo de la vainillina, puede afectar la cinética de reacción de la catequina y taninos con vainillina diferencialmente. El ensayo de la vainillina en metanol es más sensible para los taninos poliméricos que para los flavan-3-oles monoméricos. Este ensayo es generalmente reconocido como un método útil para la

detección y cuantificación de taninos condensados en plantas debido a su sensibilidad, especificidad y simplicidad. Sin embargo, debe ser considerada la posibilidad de interferencias con dihidrochalconas y antocianinas. El método se puede usar para cuantificar taninos condensados en un intervalo de 5-500  $\mu\text{g}$  con precisión y exactitud mayores a 1  $\mu\text{g}$  cuando la concentración óptima de reactantes y disolventes son elegidos.

Este método se basa en la condensación de la vainillina con proantocianinas en una solución acidificada. La vainillina protonada, un electrofílo débil, reacciona con el anillo del flavonoide en la posición 6 u 8. El producto de esta reacción se deshidrata fácilmente para dar un color rosa ligero a un intenso rojo cereza. La estabilidad del color del aducto vainillina-tanino puede incrementarse cuando la luz es excluida y la temperatura de reacción es controlada y entonces se obtienen resultados exactos y reproducibles (Vásquez y col., 2007).

- Ensayos ultravioleta

Se han realizado numerosos estudios para desarrollar técnicas rápidas de cuantificación de compuestos fenólicos mediante ensayos ultravioletas. Cada grupo de compuestos fenólicos se caracteriza por tener una o varias absorbancias máximas a distintas longitudes de onda dentro del espectro ultravioleta. Así, los fenoles simples tienen una absorbancia máxima entre 220 y 280 nm, mientras que los compuestos fenólicos relacionados presentan una amplia variación en la longitud de onda a la cual presentan una absorbancia máxima. Una de las técnicas más empleadas dentro de este grupo es la determinación del ácido clorogénico, el cual se cuantifica después de su extracción con etanol y posterior lectura de la absorbancia máxima a una longitud de onda de 325-328 nm (Vásquez y col., 2007).

- Ensayo de Folin-Ciocalteu

En esta investigación se utilizó el ensayo de Folin-Ciocalteu, basado en la oxidación de los compuestos fenólicos totales por acción del reactivo de Folin-Ciocalteu (formado por una mezcla de ácido fosfotúngstico ( $\text{H}_3\text{HW}_{12}\text{O}_{40}$ ) y ácido fosfomolibdico ( $\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$ ) que se reduce por acción de los fenoles generando óxidos azules de tungsteno ( $\text{W}_8\text{O}_{23}$ ) y de molibdeno ( $\text{Mo}_8\text{O}_{23}$ ). La oxidación de los fenoles presentes en la muestra causa la aparición



de una coloración azul que presenta un máximo de absorción a 760nm, y se cuantifica por espectrofotometría con base a una curva patrón de ácido gálico (Leyva, 2009).

#### **1.2.1.1.2. Método ABTS<sup>•+</sup> 2,2'-Azino-bis (3-etilenbenzotiazolino-6-ácido sulfónico)**

El método ABTS<sup>•+</sup> es uno de los más utilizados para determinar la capacidad de los compuestos fenólicos totales para capturar radicales libres generados, operando así en contra de los efectos perjudiciales de los procesos de oxidación, que implican especies reactivas de oxígeno (Arnao, 2000; Montoya y col., 2003).

El radical libre ABTS<sup>•+</sup> tiene que ser generado tras una reacción que puede ser química (dióxido de magnesio, persulfato de potasio, ABAP (2,2'-azobis(2-amidinopropanol)) (Arnao, 2000; Kuskoski y col., 2004), enzimática (peroxidasa) o también electroquímica (Imeh y col., 2002). Con el ABTS se puede medir la actividad de compuestos de naturaleza hidrofílica y lipofílica (Kim y col., 2002).

La molécula incolora ABTS se convierte en un radical de color azul-verde (ABTS<sup>•+</sup>) por oxidación (figura 2). El radical ABTS<sup>•+</sup> tiene una máxima longitud de onda a 645, 734 y 815 nm. La oxidación del radical ABTS<sup>•+</sup> comienza inmediatamente pero la absorbancia no es máxima ni estable hasta después de haber transcurrido 6 h. La máxima absorbancia es alcanzada después de 12-16 h. La adición de compuestos antioxidantes al radical catión ABTS<sup>•+</sup> preformado, reduce hasta un punto y una escala de tiempo dependiendo de la actividad antioxidante, la concentración del antioxidante y la duración de la reacción. La disminución de la absorción después de la adición de antioxidantes es directamente proporcional al número de los radicales ABTS<sup>•+</sup> (Łódzka, 2014).

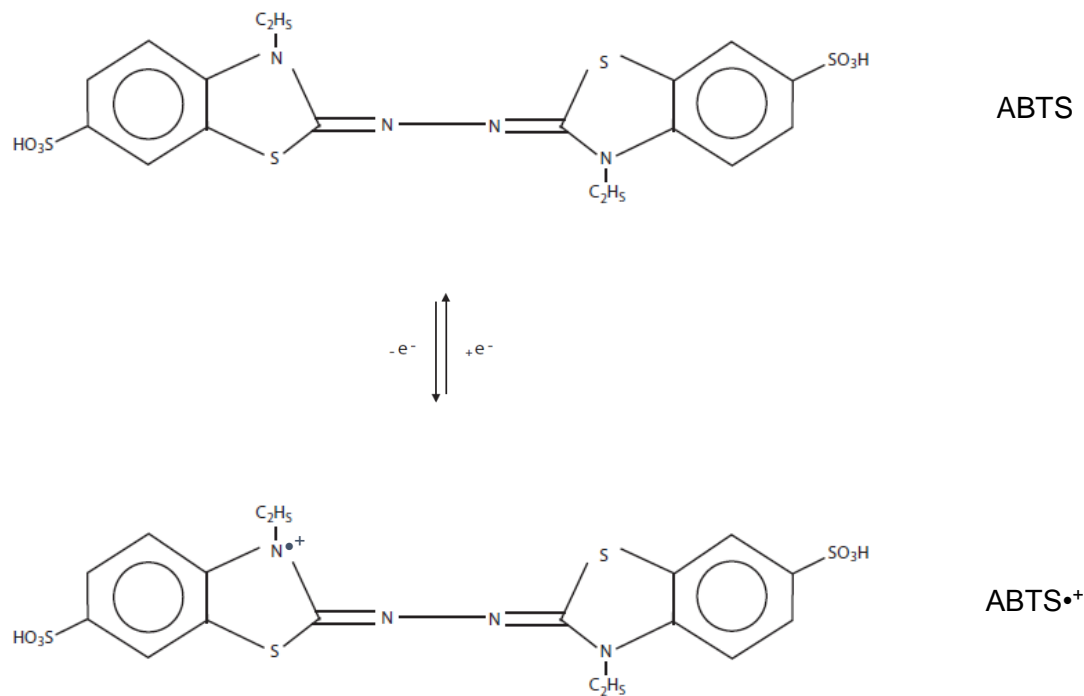


Figura 2. ABTS y su producto de oxidación de un electrón, ABTS•<sup>+</sup>.

### 1.2.1.1.3. Método DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidracilo)

El compuesto DPPH se caracteriza por poseer un electrón desapareado que es el radical libre estable 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH•), estabilizado por resonancia. Por esta propiedad, el compuesto DPPH se utiliza como material de referencia para determinar el poder antioxidante de una sustancia por captura de radicales libres (Avella y col., 2008).

Este método permite la evaluación de la actividad de sustancias con su radical en una solución metanólica que tiene un color violeta intenso que se pierde progresivamente a color amarillo cuando se añade la muestra que contiene antioxidantes. La decoloración del radical se determina alrededor de 520 nm y la cuantificación se realiza por lo general empleando soluciones de Trolox (análogo sintético de la vitamina E) (Leyva, 2009).

Cuando una disolución de DPPH entra en contacto con una sustancia que puede donar un átomo de hidrógeno o con otra especie radical (R) se produce la forma reducida DPPH-H o DPPH-R con la consecuente pérdida del color (figura 3) y por lo tanto la pérdida de la absorbancia (Molyneux, 2004).

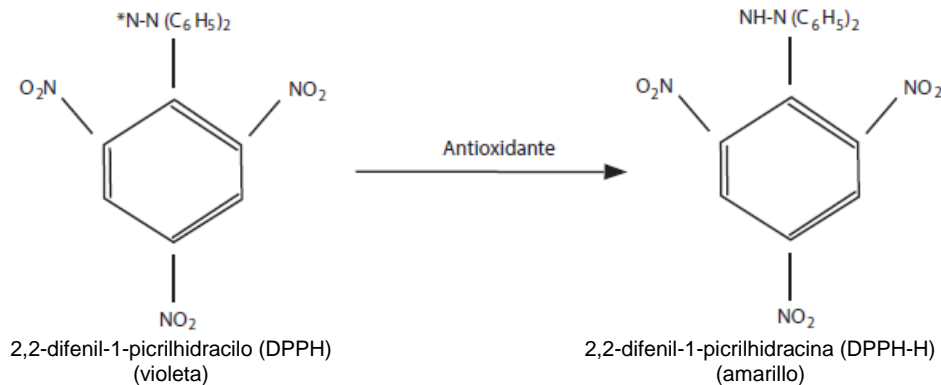


Figura 3. Reacción química entre el radical DPPH• y la especie antioxidante.

### 1.2.2. Fuentes de obtención de los antioxidantes

Estudios epidemiológicos han demostrado que el consumo de dietas altas en frutas y vegetales puede contribuir a mantener la salud y a reducir el riesgo de enfermedades crónicas como enfermedades coronarias, cataratas, cáncer, diabetes, Alzheimer y cáncer. La diversidad y complejidad de los fitoquímicos en los frutos frescos y vegetales contribuyen a que esos efectos no puedan ser imitados por suplementos dietéticos individuales, por lo tanto el Consejo Nacional de Investigación (NRC) en Estados Unidos ha recomendado consumir 5 o más raciones de frutas y vegetales para mantener una salud óptima. Esto es pensado en que la clave para prevenir o reducir el estrés oxidativo es mantener el balance de los niveles de antioxidantes y los oxidantes endógenos. Los oxidantes causan estrés oxidativo, resultando en daños al ADN, lípidos y proteínas, principalmente. Frutas y vegetales ricos en pigmentos como las antocianinas, betalainas o carotenoides son fuentes potentes de antioxidantes, y juegan un papel importante en la prevención de enfermedades cardiovasculares y cáncer (Jiratanan y col., 2004).

### 1.3. Betalainas.

#### 1.3.1. Características físico-químicas de las betalainas.

El término betalainas se refiere a un grupo de aproximadamente 70 pigmentos hidrosolubles, con estructuras de glucósidos, derivados de la 1,7-diazoheptametina, y que se han dividido en dos grandes clases: los rojos o betacianinas, y los amarillos o betaxantinas.

Son similares a las antocianinas en apariencia visual. Anteriormente se les llamaba antocianinas nitrogenadas. Estos pigmentos se encuentran sólo en 10 familias: *Aizoaceae*, *Amaranthaceae*, *Basellanaceae*, *Cactaceae*, *Chenopodaceae*, *Didiereaceae*, *Holophytaceae*, *Nyctaginaceae*, *Phytolaccaceae* y *Portulacaceae*. También se han encontrado algunas betalainas de origen fúngico: como *Amanita* y *Hygrocybe*. Al igual que las antocianinas, se acumulan en las vacuolas celulares de las flores, frutas y hojas que las sintetizan, principalmente en la epidermis y la subepidermis (Badui-Dergal, 2009).

Las antocianinas y las betalainas, nunca han sido reportadas en la misma planta, por lo que son mutuamente excluyentes (Kujala y col., 2000; Azeredo, 2009), esto se debe a una diferencia estructural basada en que el precursor de la betalaina es la tirosina y el precursor de las antocianinas es la fenilalanina (Stintzing y col., 2004). Las betalainas por su parte son más estables al pH y la temperatura, por lo que pueden utilizarse en alimentos ligeramente ácidos, lo que no es posible con las antocianinas (Ravichandran y col., 2011).

Las betalainas son conjugados imonio del ácido betalámico con ciclo-DOPA (formando betanidina) o ciclo-DOPA glucosilado (formando otras betacianinas) también conocidos como amino ácidos o aminas (formando betaxantinas) (Gandía-Herrero y col., 2009).

Las betalainas que van desde un color amarillo-rojo contienen compuestos de nitrógeno que se derivan de la tirosina. Comprenden dos tipos de pigmentos hidrosolubles: las betacianinas (que predominan en el betabel caracterizados por pigmentos rojo-violeta) y las betaxantinas (pigmentos amarillos) (Prudencio y col., 2008; De Azeredo y col., 2009; Latorre y col., 2010), químicamente son moléculas derivadas del ácido betalámico (figura 4) (Moreno-Alvarez y col., 2002).

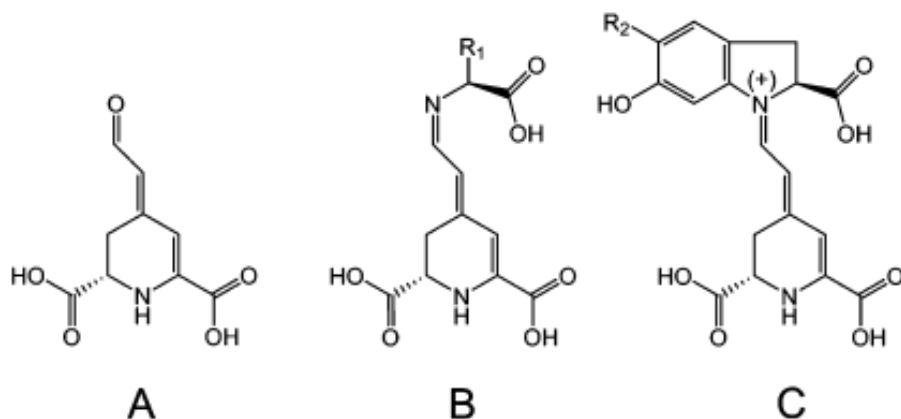


Figura 4. Estructura general del a) ácido betalámico, b) betaxantinas y c) betacianinas.

Las betacianinas muestran dos máximos de absorción, uno en el intervalo UV (270-280 nm), y una segunda en el intervalo visible (535 a 540 nm, en función del disolvente). Las betaxantinas, poseen diferentes aminoácidos o cadenas laterales amino con un máximo de absorción a 480 nm (Azeredo, 2009).

Las betalainas poseen un número de sustituyentes, tales como: glucosa, ácido glucurónico y apiosa; como monómeros de azúcar, y compuestos como el ácido malónico y ácido 3-hidroxi-3-metil-glutarico, así como el ácido cafeico, ácido *p*-cumárico y ácido felúrico, que representan los constituyentes típicos ácidos (Stintzing y col., 2007).

### **1.3.2. Estabilidad de las betalainas.**

La estabilidad de las betalainas está fuertemente influenciada por las enzimas presentes en su estructura y composición, pH, actividad de agua ( $a_w$ ), oxígeno, luz, metales, temperatura, ácido ascórbico y azúcares (Kujala y col., 2000; Chethana y col., 2007; López y col., 2009).

#### **1.3.2.1. Estructura y composición**

El betabel poseen enzimas endógenas como la  $\beta$ -glusidasa, polifenoloxidasa y peroxidasa, que de no ser inactivadas, principalmente por escaldado, pueden degradar a las betalainas, y a su vez el color (Azeredo, 2009; Stintzing y col., 2004), ya que se genera el pardeamiento enzimático (Latorre y col., 2010).

#### **1.3.2.2. Actividad de agua ( $a_w$ )**

La estabilidad de las betalainas puede ser afectada por la actividad de agua, ya que es un factor determinante en la susceptibilidad del pigmento para degradarse. Por lo que se le atribuye una movilidad reducida de los reactivos o la limitada solubilidad de oxígeno (Azeredo, 2009).

#### **1.3.2.3. Temperatura**

La temperatura es un factor muy importante que influencia la estabilidad de las betalainas, debido a que como lo mencionan Ravichandran y col. (2011) la degradación de las

betalainas posee una relación directamente proporcional con respecto al aumento de la temperatura.

### **1.3.3. Propiedades de las betalainas.**

Las betalainas son metabolitos beneficiosos para la salud ya que presentan efectos antioxidantes y anticarcinogénicos (Lee y col., 2005), intervienen en la disminución de los triglicéridos, control de la glucemia y contribuyen a combatir la arteroesclerosis (Moreno y col., 2007). Así mismo, resultan importantes en la contribución de la salud cardiovascular, ya que reducen la concentración de homocisteína, que puede ser perjudicial para los vasos sanguíneos (Latorre y col., 2010).

Si se incorporan betalainas a la dieta, éstas pueden proteger a las células y evitar la hemólisis oxidativa en los glóbulos rojos (Azeredo, 2009).

Lee y col. (2005) determinaron que las betalainas pueden inducir la quinona reductasa, enzima de detoxificación potente, asociada con la quimioprevención del cáncer; a través de la inactivación y detoxificación de carcinógenos mediante su conversión a derivados oxigenados que son eliminados rápidamente en orina, sudor y heces, e inducen la apoptosis en células de hepatoma murino (Hepa 1c1c7) (Gasztonyi y col., 2001; Wettasinghe y col., 2002).

Las primeras investigaciones demostraron la capacidad de captación de radicales de las betalainas que se realizaron con los pigmentos presentes en el betabel. Subsecuentes investigaciones revelaron la existencia de una actividad intrínseca presente en todas las betalainas y que es modulada por factores estructurales. Además, una dieta con una muy baja concentración de betanina ha demostrado inhibir la formación de tumores en el hígado de ratones y protegerlos de los efectos de la radiación  $\gamma$  (Gandía-Herrero y col., 2009). En los humanos, la concentración plasmática de betalainas después de la ingestión es suficientemente alta que estos compuestos son incorporados a LDL (lipoproteínas de baja densidad) y a los glóbulos rojos, donde pueden proteger a las células del daño oxidativo y hemólisis (Gandía-Herrero y col., 2009).

# Objetivos e hipótesis

### **Objetivo general**

Determinar el efecto del procesamiento térmico sobre el contenido de betalainas, compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante del betabel (*Beta vulgaris* L.).

### **Objetivos específicos**

- Determinar la concentración de betalainas totales y compuestos fenólicos totales en las muestras de betabel sometidas a procesamiento térmico.
- Determinar la actividad antioxidante de las muestras de betabel por efecto del procesamiento térmico.
- Establecer la relación entre el contenido de betalainas totales y compuestos fenólicos totales, con las distintas actividades antioxidantes de las muestras de betabel sometidas a procesamiento térmico.



### **Hipótesis**

El procesamiento térmico afectará el contenido de betalainas, compuestos fenólicos totales y la capacidad antioxidante de las diferentes muestras de betabel estudiadas.

# Capítulo 2.

# Metodología

## **2.1. Obtención de materia prima.**

Las muestras de betabel fueron obtenidas en el mercado 16 de septiembre, Toluca, Estado de México, en el año 2013. Las cuales cumplían con los criterios de madurez de cosecha, presentando una buena calidad, incluyendo que se encontraban lisas y firmes, con forma y tamaño uniforme, sin daños físicos, que poseían un color de la piel uniforme y típica de la variedad; en éste caso *Beta vulgaris* L. var. conditiva (UC Davis, 2014).

Las muestras se mantuvieron en refrigeración hasta el momento de su utilización.

## **2.2. Procesamientos térmicos de las muestras de betabel.**

Las muestras fueron lavadas con abundante agua y secadas sobre papel absorbente, posteriormente fueron cortadas en trozos pequeños (aproximadamente de 0.5 cm de largo x 0.5 cm de ancho x 0.2 cm de alto); dependiendo de la parte del betabel a utilizar (pulpa, cáscara y pulpa-cáscara).

### **2.2.1. Procesamiento térmico: escaldado para pulpa, escaldado para cáscara y escaldado para pulpa-cáscara.**

Las muestras del betabel previamente cortadas (pulpa, cáscara y pulpa-cáscara), se colocaron en un recipiente con agua a 75 °C, durante 2 min, posteriormente se retiraron del agua, se colocaron en papel absorbente y se almacenaron en bolsas de plástico por separado, se etiquetaron y se guardaron en refrigeración hasta el momento de su análisis.

### **2.2.2. Procesamiento térmico: tostado para pulpa, tostado para cáscara y tostado para pulpa-cáscara.**

Para el procesamiento térmico se siguió la metodología de Ravichandran y col. (2011) con algunas modificaciones. Se colocaron las muestras del betabel previamente cortadas (pulpa, cáscara y pulpa-cáscara), en una sartén de metal inoxidable precalentada a 60 °C, se agitaron durante 2 min de manera constante para asegurar una distribución uniforme del calor, posteriormente se retiraron de la sartén, se colocaron en papel aluminio hasta enfriarse y se almacenaron en bolsas de plástico por separado, se etiquetaron y se mantuvieron en refrigeración hasta el momento de su análisis.

### **2.2.3. Procesamiento térmico: escaldado-tostado para pulpa, escaldado-tostado para cáscara y escaldado-tostado para pulpa-cáscara.**

El escaldado-tostado de las muestras de betabel previamente cortadas (pulpa, cáscara y pulpa-cáscara), se realizó aplicando un escaldado en agua a una temperatura de 75°C por 2 min, posteriormente se retiró el exceso de agua de las muestras colocándolas en papel absorbente, y se procedió a realizar el tostado, colocando las muestras de betabel previamente escaldadas en una sartén de metal inoxidable a una temperatura de 60 °C por 2 min y se agitaron manualmente, se retiraron del sartén, se colocaron en papel aluminio y se almacenaron en bolsas de plástico por separado, se etiquetaron y se mantuvieron en refrigeración hasta el momento de su análisis.

### **2.3. Método de extracción de betalainas**

Para la extracción de betalainas se utilizó la metodología de Ravichandran y col. (2011) con algunas modificaciones. Se tomaron 0.1 g  $\pm$  0.001g de las muestras tratadas, y se procedió a macerarlas en un mortero adicionando 10 mL de una disolución de etanol-agua (50:50 v/v). Los macerados fueron colocados en un tubo para centrifuga con capacidad de 15 mL, posteriormente se centrifugaron a 6000 rpm durante 10 min en una centrifuga (Micro CL 17 Centrifuge Thermo Scientific). El sobrenadante se colectó y la centrifugación se repitió una vez más.

Los sobrenadantes se reunieron y almacenaron en refrigeración (4°C) hasta el momento de ser utilizados en la determinación de betacianinas, betaxantinas, compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante.

### **2.4. Determinación de la concentración de betalainas totales.**

La concentración de betalainas totales fue determinada acorde a lo establecido por Ravichandran y col. (2011). Por lo que se determinó el contenido de betacianinas y betaxantinas en los extractos, a 540 nm y 480 nm, respectivamente, en un espectrofotómetro UV-Visible (Velab). La lectura de la absorbancia obtenida se utilizó para calcular la concentración de betacianinas y betaxantinas, posteriormente se calculó el

contenido de betalainas totales para cada tratamiento, mediante la adición de las 2 anteriores.

El contenido de betalainas (BT) se calculó con la siguiente fórmula:

$$BT (mg/100g) = (BC + BX) mg/100g$$
$$BC; BX (mg/100g) = \left[ \frac{(A \times DF \times MW \times 10^6)}{(e \times l)} \right]$$

Donde:

- A es la absorbancia,
- DF es el factor de dilución, y
- l es el ancho de la celda (1 cm).
- Para la cuantificación de las betacianinas (BC); el peso molecular (MW) es MW= 550 g/mol y el coeficientes de extinción molar (e) es e= 60000 L/mol cm en H<sub>2</sub>O
- Para la cuantificación de las betaxantinas (BX), el peso moleculares (MW) es MW= 308 g/mol y el coeficientes de extinción molar (e) es e=48000 L/mol cm en H<sub>2</sub>O

## 2.5. Determinación de compuestos fenólicos totales.

El contenido de compuestos fenólicos totales fue determinado por el ensayo Folin-Ciocalteau, y fue expresado como equivalente de ácido gálico (EAG), y se determinaron con base a una curva estándar (0-5 mg/L ácido gálico) (Anexo A).

A 20 µL del control y las muestras tratadas se le adicionaron 250 µL del reactivo Folin-Ciocalteau 1N. La mezcla se agitó vigorosamente en un vortex, después se mezclaron con 1.25 mL de una disolución de carbonato de sodio al 20%, finalmente se le adicionaron 480 µL de agua destilada y la muestra de dejó incubar durante 90 min. Después de la incubación, las mediciones espectrofotométricas se realizaron en un espectrofotómetro UV visible, la absorbancia de la mezcla se leyó a 760 nm usando el respectivo solvente como blanco. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico (mg EAG).

## 2.6. Determinación de la actividad antioxidante

### 2.6.1. ABTS<sup>•+</sup> 2,2'-Azino-bis (3-etilenbenzotiazolino-6-ácido sulfónico)

Para la evaluación de la actividad antioxidante se utilizó el método de Pellegrini y col. (2006) modificado por Lopez-Martinez y col. (2009). Se preparó una solución stock de ABTS<sup>•+</sup>, mezclando una alícuota de 5 mL de la solución ABTS (7 mM) y 88 µL de persulfato de potasio (140 mM), seguido de reposo en la oscuridad durante 12 h hasta producir una disolución de color verde oscuro. Posteriormente la disolución se diluyó con metanol hasta que la absorbancia alcanzó 0.74 a 734 nm. Se utilizó una solución de Trolox (0.02 mM) como antioxidante positivo. Se tomó la lectura de un blanco del reactivo ( $A_0$ ). Posteriormente se colocaron 3.0 mL de la disolución del reactivo ABTS<sup>•+</sup> y se combinaron con 100 µL de cada extracto a una concentración estandarizada de 0.6 mg/L (compuestos fenólicos totales), la lectura de la absorbancia se realizó después de 10 min de combinar el extracto con la disolución del reactivo ABTS<sup>•+</sup> ( $A_t$ ) en un espectrofotómetro de arreglo de diodos (Hewlett Packard HP8452A). El porcentaje de inhibición del ABTS<sup>•+</sup> se calculó de la siguiente forma:

$$\% \text{ inhibición} = [(A_0 - A_t) / A_0] \times 100$$

Donde:

- $A_0$ : Absorbancia inicial.
- $A_t$ : Absorbancia final.

### 2.6.2. DPPH<sup>•</sup> (2,2-difenil-1-picrilhidracilo)

La actividad anti-radical fue adaptada del método de Lopez-Martinez y col. (2009). Los extractos se ensayaron a una concentración estandarizada de 0.6 mg/L (compuestos fenólicos totales). La reacción con el radical DPPH<sup>•</sup> se llevó a cabo en tubos de polipropileno a temperatura ambiente (25°C). Los extractos anteriormente ensayados se adicionaron a 2.8 mL del radical (DPPH<sup>•</sup>, 98.9 mM en metanol) y se agitó en vórtex por 15 segundos. La disminución en la absorbancia del DPPH<sup>•</sup> se midió a 520 nm en un espectrofotómetro, iniciando en el tiempo en el que recién se añadió la solución y cada 10 min hasta que no se observó cambio en la absorbancia de las muestras (90 min). Se utilizó metanol como blanco, Trolox (0,02 mM) fue un control positivo antioxidante y el control fue una mezcla de

2.8 mL de DPPH• y 100 µL de metanol. La actividad antioxidante se expresó como el porcentaje de inhibición, calculado de la siguiente manera:

$$\% \text{ inhibición} = [(A_0 - A_t) / A_0] \times 100$$

Donde:

- $A_0$ : Absorbancia inicial.
- $A_t$ : Absorbancia final.

## **2.7. Análisis estadístico**

Para todos los experimentos se realizó un diseño por bloques completamente al azar y la significancia ( $p < 0.05$ ) de diferencia de medias entre tratamientos fue establecido utilizando ANOVA seguido de una comparación de Tukey utilizando el software SPSS 18 para Windows.

# Capítulo 3.

## Resultados y discusión



### 3.1. Procesamientos térmicos de las muestras de betabel.

Debido al tratamiento previo en las muestras de betabel, se observó un aumento o disminución en la coloración de los extractos etanólicos, esto debido a que algunos tratamientos térmicos aumentan el contenido de compuestos coloreados (melanoidinas) o desnaturalizan el contenido de betalainas del betabel, las cuales son las responsables del color tan característico de éste vegetal (Badui-Dergal, 2009).

En la figura 5 se muestran los extractos obtenidos, donde se encontró un extracto de betalainas más pigmentado en el tratamiento cáscara tostada, pulpa-cáscara tostada, cáscara escaldada-tostada, pulpa-cáscara escaldada, cáscara escaldada, pulpa tostada, pulpa escaldada-tostada, pulpa-cáscara escaldada-tostada y pulpa escaldada, tal y como se puede apreciar en la figura, ya que la coloración de los diferentes extractos luego de aplicar los tratamientos térmicos fueron muy diferentes, yendo de un rojo intenso a un rosa pálido, determinados mediante un análisis visual.



Figura 5. Extractos etanólicos del betabel.

La temperatura es un factor muy importante que influencia la estabilidad de las betalainas, debido a que como lo mencionan Ravichandran y col. (2011) la degradación de las betalainas posee una relación directamente proporcional con respecto al aumento de la temperatura.

Los pigmentos del betabel pueden ser obtenidos por medio de una extracción acuosa, aunque, en la mayoría de los casos, se utilizan soluciones de etanol-agua (20 al 50% v/v de etanol) las cuales son necesarias para completar la extracción (Azeredo, 2009; López y col., 2009). En este caso se utilizó una mezcla extractora etanol-agua (50:50 v/v), tal y como lo hicieron Ravichandran y col. (2011) quienes demostraron que extraer las betalainas con una mezcla extractora similar a la utilizada en este estudio, permite una alta estabilidad de las betalainas, en comparación con otros extractos y a otras concentraciones de etanol. La degradación de la membrana celular permeable obtenida a partir de la maceración es el factor que mayormente determina la eficiencia de la extracción de las betalainas (Azeredo, 2009) y compuestos fenólicos totales.

### **3.1.1. Procesamiento térmico: escaldado para pulpa, escaldado para cáscara y escaldado para pulpa-cáscara.**

De forma teórica, éste tratamiento permite inactivar enzimas propias del betabel como  $\beta$ -glucosidasa, polifenoloxidasas y peroxidasas, que de no ser inactivadas, pueden degradar a las betalainas, y a su vez el color (Stintzing y col., 2004; Azeredo, 2009).

### **3.1.2. Procesamiento térmico: tostado para pulpa, tostado para cáscara y tostado para pulpa-cáscara.**

En estudios realizados por Ravichandran y col. (2011) se menciona que procesos como el tostado aumentan la capacidad antioxidante del betabel, esto debido a la formación de compuestos coloreados (melanoidinas) a partir de reacciones de Maillard que poseen actividad antioxidante.

De manera general se encontró que las muestras de betabel expuestas a éste tratamiento (cáscara tostada y pulpa-cáscara tostada) se tornaron de un color más oscuro a diferencia de las muestras procesadas por escaldado, donde la coloración de las mismas disminuyó, ya que en el escaldado, el agua utilizada se tornó de un color ligeramente violeta, lo cual corresponde al contenido de betalainas perdidas en éste procesamiento térmico.

Badui-Dergal (2009) menciona que mediante la exposición al calor se generan una serie de reacciones en donde interactúan los diferentes compuestos presentes en el betabel, de ésta forma los colores oscuros se deben a reacciones de pardeamiento no enzimático entre las proteínas y los azúcares reductores, dando como resultado melanoidinas coloreadas, que originan un color incluso negro, estos compuestos generados a partir de reacciones de Maillard poseen actividad antimicrobiana, antimutagénica, antitumoral y antioxidante, producen supresión del crecimiento celular tumoral e inhibición de enzimas digestivas. Su papel como antioxidante *in vivo* no es conocido aunque distintos estudios *in vitro* apoyan su papel benéfico como antioxidante del radical hidroxilo, superóxido y peroxilo (Valls-Bellés y col., 2004).

### **3.1.3. Procesamiento térmico: escaldado-tostado para pulpa, escaldado-tostado para cáscara y escaldado-tostado para pulpa-cáscara.**

Éste tratamiento se propuso para determinar si una muestra de betabel sometida a tratamientos térmicos prolongados se ve afectada en cuanto al contenido de betalainas totales, en éste caso mediante la realización de un escaldado y luego un tostado.

Las muestras expuestas a éste tratamiento presentaron un aspecto seco y de color oscuro, debido al escaldado y tostado al que fueron sometidas.

### **3.2. Análisis preliminar: 9 Tratamientos (pulpa escaldada, cáscara escaldada, pulpa-cáscara escaldada, pulpa tostada, cáscara tostada, pulpa-cáscara tostada, pulpa escaldada-tostada, cáscara escaldada-tostada y pulpa-cáscara escaldada-tostada).**

#### **3.2.1. Determinación de betacianinas, betaxantinas y betalainas totales.**

Se determinó el contenido de betacianinas, betaxantinas y betalainas totales presentes en las diferentes muestras de betabel para evaluar el impacto del procesamiento térmico de cada uno de los tratamientos.

El contenido de betacianinas y betaxantinas se muestran en la figura 6 y 7, respectivamente (valor exacto de las concentraciones reportado en el anexo B). Este contenido se ve claramente afectado por los procesamientos térmicos, encontrando que el escaldado,

tostado o la combinación de éstos, afecta de manera directa la concentración de estos compuestos en las diferentes muestras, sin embargo, se observa que el tratamiento cáscara tostada presentó una mayor disponibilidad en el contenido de betacianinas y betaxantinas.

El contenido de betacianinas derivado de los diferentes métodos de procesamiento térmico presentaron diferencia significativa en los métodos de procesamiento ( $p < 0.05$ ). Los métodos pulpa escaldada, pulpa-cáscara escaldada-tostada, pulpa tostada y pulpa escaldada-tostada no presentaron diferencia significativa entre sí, al igual que los métodos pulpa tostada, pulpa escaldada-tostada y cáscara escalda; cáscara escalda y cáscara escaldada-tostada; cáscara escaldada-tostada y pulpa-cáscara tostada; pulpa-cáscara tostada y pulpa-cáscara escaldada, pero estos métodos si presentaron diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) al compararlos con el método de procesamiento cáscara tostada (figura 6).

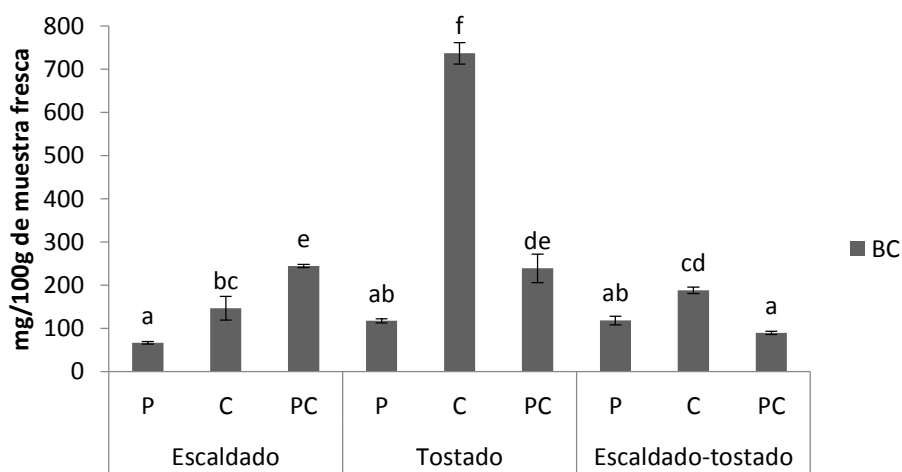


Figura 6. Contenido de betacianinas (BC) después de los tratamientos térmicos. Letras diferentes en cada barra muestran diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), letras iguales en más de una columna representan que no hay diferencia significativa ( $p > 0.05$ ). P: pulpa; C: cáscara; PC: pulpa-cáscara.

El contenido de betacianinas en la pulpa del betabel después de ser tratada mediante los procesamientos térmicos disminuye en el siguiente orden escaldado-tostado, tostado, escaldado. En el caso de la cáscara éste valor disminuye en el siguiente orden de acuerdo a los tratamientos térmicos aplicados: tostado, escaldado-tostado, escaldado. Finalmente para el caso de la muestra de pulpa-cáscara, el valor de betacianinas después de los tratamientos con calor, fue el siguiente: tostado, escaldado y escaldado-tostado.

Para el caso del contenido de las betaxantinas se encontró que los diferentes métodos de procesamiento térmico presentaron diferencia significativa en los métodos de procesamiento ( $p < 0.05$ ). Los métodos pulpa escaldada, pulpa escaldada-tostada, pulpa tostada y pulpa-cáscara escaldada-tostada no presentaron diferencia significativa entre sí, al igual que los tratamientos cáscara escalda y cáscara escaldada-tostada; pero estos métodos si presentaron diferencia significativa al compararlos con los métodos de procesamiento pulpa-cáscara escaldada, pulpa-cáscara tostada y cáscara tostada (figura 7).

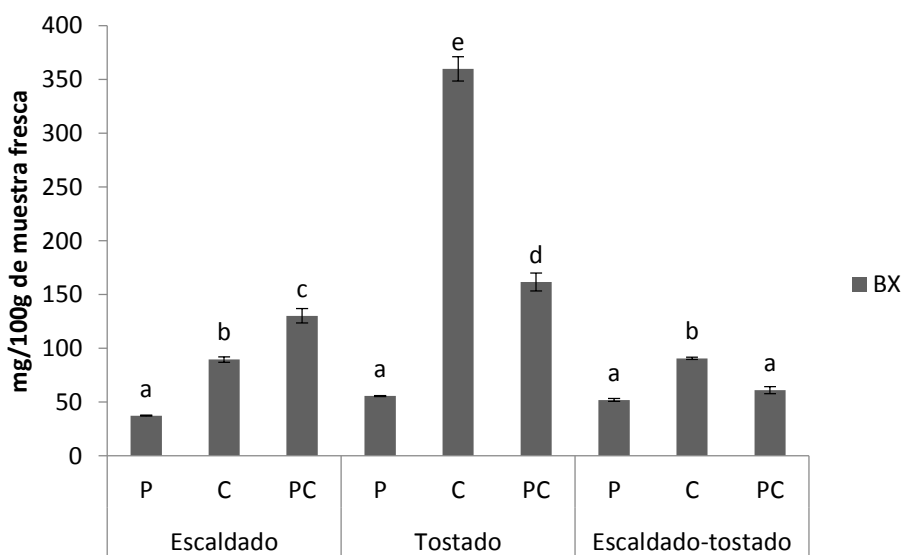


Figura 7. Contenido de betaxantinas (BX) después de los tratamientos térmicos. Letras diferentes en cada barra muestran diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), letras iguales en más de una columna representan que no hay diferencia significativa ( $p > 0.05$ ). P: pulpa; C: cáscara; PC: pulpa-cáscara.

El contenido de betaxantinas en la pulpa del betabel después de ser tratada mediante los procesamientos térmicos disminuye en el siguiente orden tostado, escaldado-tostado, escaldado. En el caso de la cáscara éste valor disminuye en el siguiente orden de acuerdo a los tratamientos térmicos aplicados: tostado, escaldado-tostado, escaldado. Finalmente para el caso de la muestra de pulpa-cáscara, el valor de betaxantinas después de los tratamientos con calor, fue el siguiente: tostado, escaldado y escaldado-tostado.

Un estudio presentado por Jiratanan y col. (2004) mostró que los tratamientos térmicos afectan directamente el contenido de betacianinas y betaxantinas, reduciendo en un 65.3% la concentración de éstas sometidas a un proceso térmico de 115°C por 45 min.

El contenido de betalainas totales se muestra en la figura 8 (valor exacto de las concentraciones reportado en el anexo B). Se realizó el análisis en las diferentes muestras de betabel después de los procesamientos térmicos. El tratamiento cáscara tostada mostró una concentración de betalainas totales mayor, seguida por los tratamientos pulpa-cáscara tostada, cáscara escaldada-tostada, pulpa-cáscara escaldada, cáscara escaldada, pulpa tostada, pulpa escaldada-tostada, pulpa-cáscara escaldada-tostada y pulpa escaldada. Los resultados muestran de manera general que los procesamientos térmicos aplicados afectan el contenido de betalainas de las diferentes muestras de betabel estudiadas.

En el contenido de betalainas totales se observa que el tratamiento cáscara tostada muestra una diferencia significativa con todos los métodos de procesamiento ( $p < 0.05$ ). Los tratamientos cáscara escaldada-tostada y pulpa-cáscara tostada, no presentaron diferencia significativa entre sí, y al compararlos el tratamiento cáscara tostada, se encontró que estos cuatro tratamientos poseen un contenido de betalainas mayor a diferencia de los demás tratamientos (figura 8). De la misma forma los tratamientos pulpa escaldada y pulpa-cáscara escaldada-tostada no presentaron diferencia significativa entre sí, al igual que los métodos pulpa-cáscara escaldada-tostada, pulpa escaldada-tostada y pulpa tostada; pulpa tostada y cáscara escalda, cáscara escalda y pulpa-cáscara escaldada.

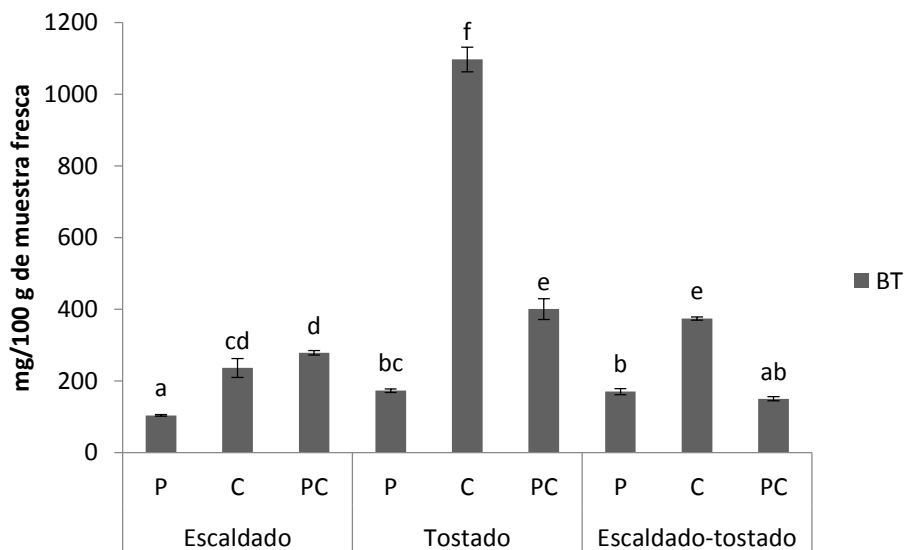


Figura 8. Contenido de betalainas totales (BT) después de los tratamientos térmicos. Letras diferentes en cada barra muestran diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), letras iguales en más de una columna representan que no hay diferencia significativa ( $p > 0.05$ ). P: pulpa; C: cáscara; PC: pulpa-cáscara.

El contenido de betalainas totales en la pulpa del betabel después de ser tratada mediante los procesamientos térmicos disminuye en el siguiente orden tostado, escaldado-tostado, escaldado. En el caso de la cáscara éste valor disminuye en el siguiente orden de acuerdo a los tratamientos térmicos aplicados: tostado, escaldado-tostado, escaldado. Finalmente para el caso de la muestra de pulpa-cáscara, el valor de las betalainas totales después de los tratamientos con calor, fue el siguiente: tostado, escaldado y escaldado-tostado.

### 3.2.2. Determinación de compuestos fenólicos totales.

La cuantificación de los compuestos fenólicos totales de los diferentes procesamientos térmicos aplicados, se determinaron mediante el ensayo de Folin-Ciocalteu, los resultados se presentan en la figura 9 (valor exacto de las concentraciones reportado en el anexo B). El tratamiento cáscara tostada mostró un contenido de compuestos fenólicos totales de 633.24 mg GAE/100 g en muestra fresca, seguida por los tratamientos pulpa-cáscara tostada, cáscara escaldada-tostada, pulpa-cáscara escaldada, cáscara escaldada, pulpa tostada, pulpa escaldada-tostada, pulpa-cáscara escaldada-tostada y pulpa escaldada.

En general, los procesamientos térmicos ensayados tienen el mismo efecto sobre el contenido de betalainas y compuestos fenólicos totales. En el caso del tratamiento cáscara

tostada que fue el que presentó el mayor contenido de compuestos fenólicos totales a diferencia de los demás tratamientos evaluados; Kujala y col. (2000), demostraron que en la cáscara del betabel hay un contenido fenólico mayor, en comparación con la coronilla y la pulpa, así como de ácido felúrico, con lo cual se podría corroborar la relación de que aquellas muestras con cáscara poseen una concentración mayor de compuestos fenólicos totales a diferencia de las muestras que solo poseían pulpa como pulpa escaldada, pulpa tostada y pulpa escaldada-tostada. Sin embargo, se encontró que el tratamiento pulpa-cáscara escaldada-tostada también posee un contenido muy bajo de compuestos fenólicos totales a pesar de tener cáscara, dicho resultado se podría atribuir a que la muestra con pulpa-cáscara fue sometida a dos tratamientos térmicos; escaldado y tostado, y se tiene que la degradación de las betalainas posee una relación directamente proporcional con respecto al aumento de la temperatura.

Kujala y col. (2000), encontraron que el contenido de compuestos fenólicos totales en la pulpa del betabel fue de 1020 mg EAG/100 g de vegetal, mientras que la cáscara posee un valor de 3870 mg EAG/100 g de vegetal. En general estos valores son mayores a los obtenidos. Lo que confirma que de alguna forma las muestras del betabel sometidas a tratamientos con calor degradan estos compuestos. Sin embargo se observa en la figura que en general, al comparar el contenido de compuestos fenólicos totales, con el tratamiento cáscara tostada se presenta un aumento del contenido de estos compuestos a diferencia de la cáscara escaldada y escaldada-tostada.

Por otro lado, en un análisis realizado por Jiratanan y col. (2004) se demostró que tratamientos térmicos aplicados al betabel aumentan hasta en un 5% la concentración de compuestos fenólicos totales, aun al aplicar temperaturas de 105, 115 y 125°C, por un lapso de hasta 45 min.

Ravichandran y col. (2011) mencionan que se puede tener una disminución en el contenido de betalainas, sin embargo, a medida que esto sucede se incrementa la actividad antioxidante del betabel, esto está probablemente relacionado con los distintos contenidos de vitaminas y compuestos fenólicos, que actúan sinérgicamente, pero que son sensibles de manera diferente a los procesos térmicos aplicados.

En el contenido de compuestos fenólicos totales se observa que el tratamiento cáscara tostada muestra una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) con todos los métodos de



procesamiento, sin embargo, los tratamientos cáscara escaldada-tostada y pulpa-cáscara tostada, no presentaron diferencia significativa entre sí, y además son los 2 tratamientos, a diferencia del de cáscara tostada, en los que el contenido de compuestos fenólicos totales fue mayor, comparado con los demás tratamientos (figura 9). De la misma forma los tratamientos pulpa escaldada, pulpa-cáscara escaldada-tostada, pulpa escaldada-tostada y pulpa tostada no presentaron diferencia significativa entre sí, al igual que los métodos pulpa-cáscara escaldada-tostada, pulpa escaldada-tostada, pulpa tostada y cáscara escalda; cáscara escalda y pulpa-cáscara escaldada.

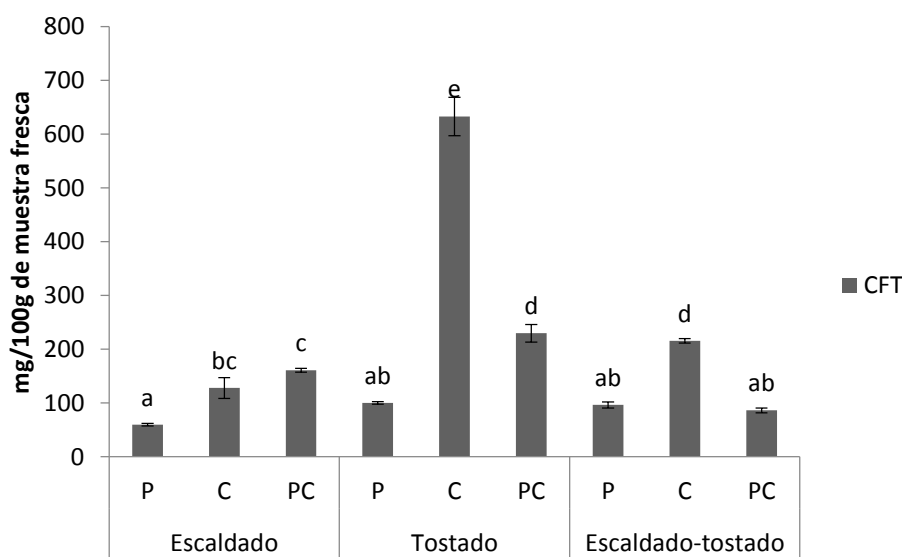


Figura 9. Contenido de compuestos fenólicos totales (CFT) después de los tratamientos térmicos. Letras diferentes en cada barra muestran diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), letras iguales en más de una columna representan que no hay diferencia significativa ( $p > 0.05$ ). P: pulpa; C: cáscara; PC: pulpa-cáscara.

El contenido de compuestos fenólicos totales en la pulpa del betabel después de ser tratada mediante los procesamientos térmicos disminuye en el siguiente orden tostado, escaldado-tostado, escaldado. En el caso de la cáscara éste valor disminuye en el siguiente orden de acuerdo a los tratamientos térmicos aplicados: tostado, escaldado-tostado, escaldado. Finalmente para el caso de la muestra de pulpa-cáscara, el valor de los compuestos fenólicos totales después de los tratamientos con calor, fue el siguiente: tostado, escaldado y escaldado-tostado.

Como se ha observado los resultados encontrados muestran que hay una relación muy estrecha entre el contenido de betalainas y los compuestos fenólicos totales, ya que como lo mencionan Czapski y col. (2009), la capacidad antioxidante del betabel está fuertemente relacionada con la cantidad de pigmentos rojos, en este caso de betalainas, así como del alto contenido de compuestos fenólicos totales. De ahí la importancia de aplicar nuevos procesamientos térmicos a éste vegetal para consumo humano, sin que se presente una pérdida significativa de betalainas o su capacidad antioxidante, y con ello una posible propiedad benéfica a la salud.

Cabe destacar que los frutos que contienen betalainas también poseen compuestos de naturaleza fenólica de diferentes tipos, excepto antocianinas, pues estas dos clases de pigmentos son mutuamente excluyentes. En betabel (*Beta vulgaris* L.), Kujala y col. (2000) señalaron un contenido mayor de betalainas respecto al contenido de compuestos fenólicos totales, tal y como se encontró en el presente trabajo (valor exacto de las concentraciones reportado en el anexo B).

Dado que el ensayo de Folin-Ciocalteu no es específico para compuestos fenólicos, pues compuestos como azúcares y algunos aminoácidos también los reducen (Robbins, 2003), los valores de los compuestos fenólicos totales en los extractos etanólicos de las muestras de betabel podrían estar sobreestimados. Entre los compuestos fenólicos solubles en el extracto etanólico del betabel está un éster del ácido felúrico (Kujala y col., 2000)

### **3.3. Análisis de las muestras con mayor contenido de betalainas totales: cáscara tostada, pulpa-cáscara tostada y cáscara escaldada-tostada.**

#### **3.3.1. Determinación de la concentración de betacianinas, betaxantinas y betalainas totales.**

Dado que en el análisis anterior se determinó que existe una estrecha relación entre el contenido de betalainas y de compuestos fenólicos totales, se determinó continuar con éste estudio, solo con los tres métodos con un menor efecto sobre éstos compuestos (cáscara tostada, pulpa-cáscara tostada y cáscara escaldada-tostada), para así analizar en general la relación del contenido de betalainas, compuestos fenólicos totales y las actividades antioxidantes de los diferentes procesamientos térmicos evaluados.

El contenido de betacianinas y betaxantinas se muestra en la figura 10 y 11, respectivamente (valor exacto de las concentraciones reportado en el anexo B). De la misma forma que en el análisis anterior, respecto al contenido de betacianinas, se encontró que el tratamiento cáscara escaldada-tostada mostró la mayor pérdida del contenido de betacianinas mientras que el tratamiento cáscara tostada fue el que presentó un aumento en la concentración de éstas, a diferencia de los demás tratamientos. De la misma forma se observó una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre los tres procesamientos térmicos para el caso del contenido de betacianinas (figura 10).

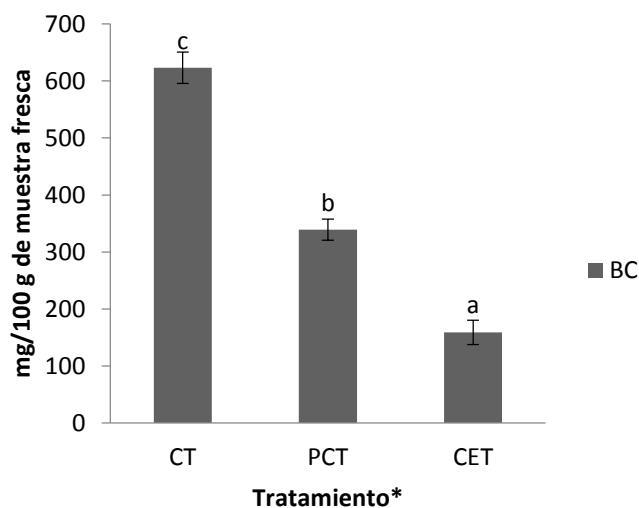


Figura 10. Contenido de betacianinas (BC) después de los tratamientos térmicos. Letras diferentes en cada barra muestran diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), letras iguales en más de una columna representan que no hay diferencia significativa ( $p > 0.05$ ). \*Cáscara tostada (CT), pulpa-cáscara tostada (PCT) y cáscara escaldada-tostada (CET).

En el caso del contenido de las betaxantinas, se puede observar en la figura 11 que éstos compuestos siguieron la misma tendencia que la figura donde se reporta el contenido de betacianinas. Es así como en conjunto se tiene que el tratamiento cáscara tostada incrementó su contenido de estos compuestos, y posee diferencia significativa con los otros dos tratamientos. Por último se tiene que el tratamiento cáscara-escaldada tostada, presentó la mayor pérdida de estos compuestos, debido a la combinación de 2 tratamientos con calor a los que fue sometida la muestra.

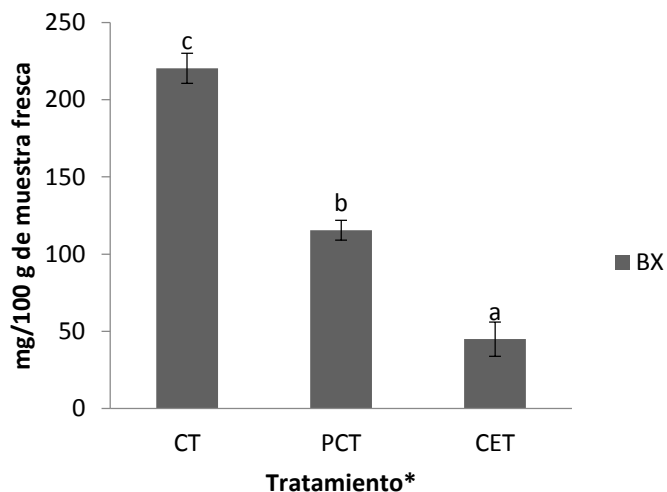


Figura 11. Contenido de betaxantinas (BX) después de los tratamientos térmicos. Letras diferentes en cada barra muestran diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), letras iguales en más de una columna representan que no hay diferencia significativa ( $p > 0.05$ ). \*Cáscara tostada (CT), pulpa-cáscara tostada (PCT) y cáscara escaldada-tostada (CET).

El contenido de betalainas totales se muestra en la figura 12 (valor exacto de las concentraciones reportado en el anexo B). Se realizó el análisis en las diferentes muestras de betabel después de los procesamientos térmicos, el tratamiento cáscara tostada presentó un contenido de betalainas totales mayor, seguida por los tratamientos pulpa-cáscara tostada y cáscara escaldada-tostada.

En el contenido de betalainas totales se observa que todos los tratamientos presentan diferencia significativa entre sí ( $p < 0.05$ ) (figura 12).

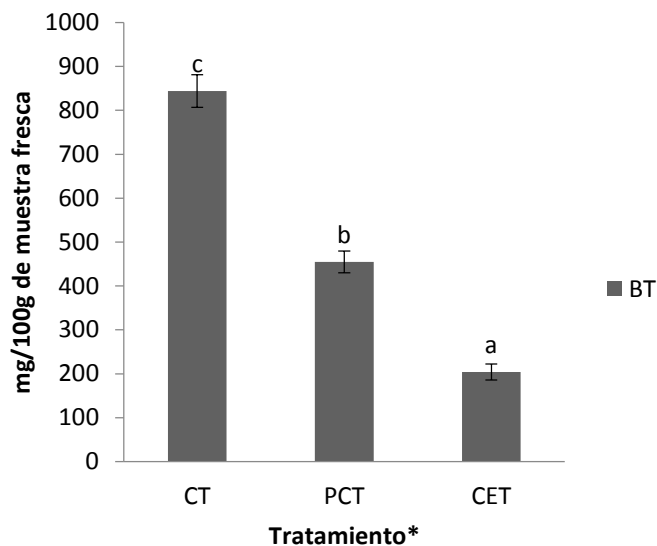


Figura 12. Contenido de betainas totales (BT) después de los tratamientos térmicos. Letras diferentes en cada barra muestran diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), letras iguales en más de una columna representan que no hay diferencia significativa ( $p > 0.05$ ). \*Cáscara tostada (CT), pulpa-cáscara tostada (PCT) y cáscara escaldada-tostada (CET).

### 3.3.2. Determinación de compuestos fenólicos totales.

Se determinó el contenido de compuestos fenólicos totales en los diferentes procesamientos térmicos aplicados al betabel (cáscara tostada, pulpa-cáscara tostada y cáscara escaldada-tostada). El contenido de compuestos fenólicos totales se muestra en la figura 13 (valor exacto de las concentraciones reportado en el anexo B). El análisis realizado en las diferentes muestras demostró que el tratamiento cáscara tostada muestra un alto contenido de compuestos fenólicos totales en comparación con los otros tratamientos, mientras que el tratamiento cáscara escaldada-tostada fue el que exhibió una concentración menor de compuestos fenólicos totales.

En la figura 13 se observa que todos los tratamientos evaluados presentaron diferencia significativa entre sí ( $p < 0.05$ ). Éste análisis demuestra que debido a que las muestras evaluadas poseen cáscara, ésta aumenta significativamente el contenido de compuestos fenólicos totales presentados. Además se encontró que en el tratamiento cáscara escaldada-tostada, éste presenta la menor concentración de éstos compuestos a diferencia de los demás tratamientos, ya que la cáscara del betabel fue sometida a 2 procesos

térmicos: escaldado y tostado, disminuyendo el contenido de betalainas, y con ello, los compuestos fenólicos totales. Cabe destacar que la cáscara del betabel es alta en compuestos fenólicos totales, con lo cual se corrobora ésta relación, lo cual significa que la cáscara presente en las muestras fue crucial para seguir manteniendo la concentración de éstos compuestos.

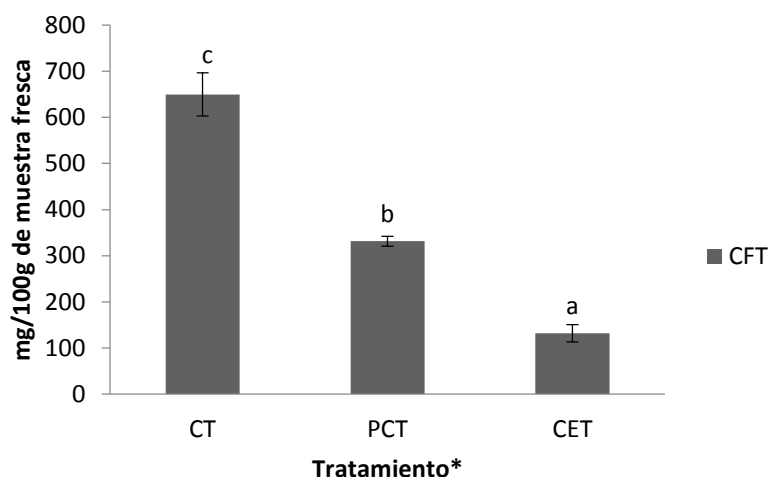


Figura 13. Contenido de compuestos fenólicos totales (CFT) después de los tratamientos térmicos. Letras diferentes en cada barra muestran diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), letras iguales en más de una columna representan que no hay diferencia significativa ( $p > 0.05$ ). \*Cáscara tostada (CT), pulpa-cáscara tostada (PCT) y cáscara escaldada-tostada (CET).

### 3.3.3. Determinación de la actividad antioxidante total por el método ABTS<sup>•+</sup> y DPPH<sup>•</sup>

La capacidad antioxidante por el método ABTS<sup>•+</sup> y DPPH<sup>•</sup> de los procesamientos térmicos evaluados se presentan en las figuras 14 y 15, respectivamente (valor exacto de las concentraciones reportado en el anexo B). De acuerdo al análisis de varianza (ANOVA) existe una diferencia significativa entre todos los tratamientos aplicados ( $p < 0.05$ ). En todas las muestras existe una pérdida de la capacidad de inhibición de los radicales ABTS<sup>•+</sup> y DPPH<sup>•</sup> después de cualquier tratamiento térmico. Sin embargo, se observa una menor pérdida de la actividad antioxidante mediante el tratamiento cáscara tostada; 25.7% para ABTS<sup>•+</sup> y 21.02% para DPPH<sup>•</sup>, en comparación con el tratamiento cáscara escaldada-tostada, que mostró una mayor pérdida de la actividad antioxidante; 71.3% para ABTS<sup>•+</sup> y 61.6% para DPPH<sup>•</sup>.

Esto puede explicarse debido a la relación que existe entre los procesos térmicos a los que fueron sometidos, es decir, el tratamiento cáscara escaldada-tostada exhibió la mayor

pérdida de actividad antioxidante debido a que se le aplicaron 2 procesos térmicos, en comparación con cáscara tostada y pulpa-cáscara tostada, que solo fueron sometidos a un procesamiento térmico.

Las betalainas presentes en el betabel aumentan su actividad antioxidante a medida que se incrementa el número de los grupos hidroxil/imino, pero sobre todo depende de la posición de los grupos hidroxil y la glicosilación de los aglicones en las moléculas de las betalainas (Cai y col., 2003).

En un estudio presentado por Wettasinghe y col. (2002), se demostró que las betalainas son muy eficientes en la reducción del radical ABTS<sup>•+</sup> (hasta en un 85%). Éste valor presentado posee una diferencia menor al compararlo con el tratamiento cáscara tostada. De manera general se observó la relación entre el contenido de betalainas y su capacidad antioxidante para la reducción del radical ABTS<sup>•+</sup>.

Así mismo se puede apreciar en la figura 14 que todos los tratamientos presentaron diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en cuanto al porcentaje de inhibición del radical ABTS<sup>•+</sup>, siendo el tratamiento cáscara tostada el que presenta un mayor contenido de actividad antioxidante.

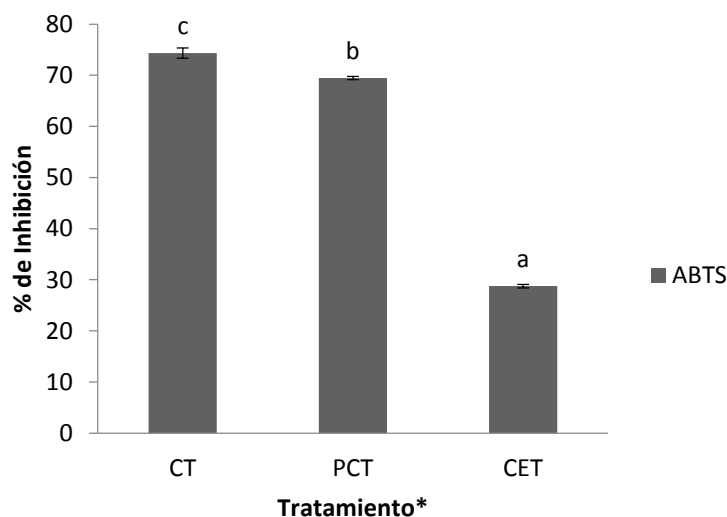
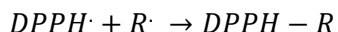


Figura 14. Actividad antioxidante por el método ABTS<sup>•+</sup> después de los tratamientos térmicos. Letras diferentes en cada barra muestran diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), letras iguales en más de una columna representan que no hay diferencia significativa ( $p > 0.05$ ). \*Cáscara tostada (CT), pulpa-cáscara tostada (PCT) y cáscara escaldada-tostada (CET).

La capacidad para secuestrar el radical DPPH• está en función del contenido del principio activo presente en cada una de las plantas en estudio. La reducción de la concentración del radical DPPH• está indicada como el decremento de la absorbancia en el tiempo. La reacción producida es la siguiente:



Al llevar a cabo el análisis de medias por el método de Tukey, se observó que el porcentaje de inhibición del radical DPPH• variaron entre cada tratamiento aplicado (figura 15), siendo el tratamiento cáscara tostada el que exhibió un mayor porcentaje de inhibición en comparación con los demás tratamientos.

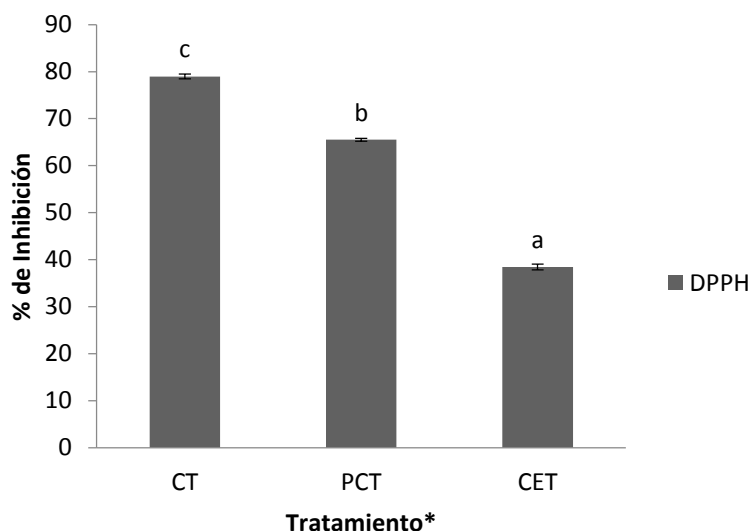


Figura 15. Actividad antioxidante por el método DPPH• después de los tratamientos térmicos. Letras diferentes en cada barra muestran diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), letras iguales en más de una columna representan que no hay diferencia significativa ( $p > 0.05$ ). \*Cáscara tostada (CT), pulpa-cáscara tostada (PCT) y cáscara escaldada-tostada (CET).

Ravichandran y col. (2011) encontraron que la actividad antioxidante del betabel a diferentes condiciones de tratamientos térmicos (cocido y tostado) aumentó significativamente, lo que demuestra que la actividad antioxidante no sólo depende de la presencia de betalainas sino también de otros compuestos coloreados que se pudieron haber incrementado durante los tratamientos. Por otro lado Gandía-Herrero y col. (2009) mencionan que las betaxantinas poseen una alta actividad antioxidante y actividad



captadora de radicales libres, que no está relacionado con la presencia de grupos hidroxifenólicos. Esto puede ser en general para todas las betalainas, las cuales contienen un sistema de resonancia electrónica similar.

Así mismo, estos resultados concuerdan con los resultados de Dewanto, Wu, Adom y Liu (2002) y Dewanto, Wu y Liu (2002) quienes encontraron que debido a los procesos térmicos hubo un mayor valor nutricional de los tomates y el maíz por el incremento de la actividad antioxidante. Esto probablemente se deba a sus diferentes contenidos de vitaminas y compuestos fenólicos, los cuales actúan sinérgicamente pero que son sensibles de manera diferente a los procesos térmicos a los que fueron sometidos. También de acuerdo a Adefegha y Oboh (2009) la cocción provoca un incremento significativo de la actividad antioxidante en los vegetales tropicales de hojas verdes.

Los resultados mostrados señalan que existe una variada actividad antioxidante entre las diferentes muestras de los procesamientos térmicos aplicados, caracterizada por su diferente porcentaje de inhibición. De acuerdo a la actividad antioxidante determinada mediante ambos métodos, los tratamientos guardan el siguiente orden de mayor a menor valor, cáscara tostada > pulpa-cáscara tostada > cáscara escaldada-tostada.

La mayor o menor actividad antioxidante, no siempre está relacionada con la concentración de compuestos fenólicos totales, así Okawa y col. (2001) reportaron que cuando se evalúa la capacidad de secuestro de radicales libres no siempre es importante el contenido de polifenoles sino la posición del grupo hidroxilo; relación que también se aprecia más adelante en la tabla 3 donde se analizó la correlación entre los compuestos fenólicos totales y las actividades antioxidantes. Singh y col. (1999) mencionan que el coeficiente de inhibición varía dependiendo de la granulometría de las muestras, el lugar de origen, las condiciones climáticas y el tratamiento de los alimentos.

De la misma forma Wybraniec y col. (2011) mencionan que la alta actividad antioxidante de las betalainas se ve afectada no sólo por la presencia de uno o dos grupos fenólicos, sino también por otros factores estructurales, no investigados hasta el momento.

Así mismo, cabe mencionar que ya que el betabel es un órgano de almacenamiento principalmente de azúcares y almidones, que fue utilizado bajo diferentes condiciones de procesamientos térmicos, es importante resaltar, que debido a esta exposición al calor, se generan una serie de reacciones donde interactúan los diferentes compuestos presentes

del betabel, entre ellas el pardeamiento no enzimático, lo que da como resultado melaniodinas coloreadas, que son compuestos con actividad antioxidante.

#### **3.3.4. Relación entre el contenido de betalainas totales y compuestos fenólicos totales, con las distintas actividades antioxidantes.**

Se realizó un análisis de las correlaciones de Pearson ( $r$ ) entre los caracteres cuantitativos evaluados: contenido de betalainas totales y compuestos fenólicos totales con las distintas actividades antioxidantes. En la tabla 3 se muestran los valores de la correlación, es decir si la cantidad de estos compuestos presentes en el betabel es la que determinará la capacidad de inhibición de radicales libres. Con el valor obtenido de la correlación se puede observar que conforme se incrementa el contenido de betalainas totales y de compuestos fenólicos totales, se incrementará de forma lineal la capacidad antioxidante, es decir, existe una asociación entre estas variables ( $r^2 > 0.8$ ).

De esta forma se encontró que el contenido de betalainas totales posee una relación muy estrecha con la actividad antioxidante, es decir que la actividad antioxidante tendrá una relación directamente proporcional con el contenido de betalainas totales que pueda presentar un betabel, o las muestras de éste sometidas a diferentes procesamientos térmicos. La correlación existente entre el contenido de betalainas totales y la actividad antioxidante es de  $r^2=0.842$  para el radical  $ABTS^{\bullet+}$  y  $r^2=0.945$  para el radical  $DPPH^{\bullet}$ .

En el caso de los compuestos fenólicos totales se observó que estos son directamente proporcionales a la actividad antioxidante que presentan las muestras de betabel ante el radical  $ABTS^{\bullet+}$  y  $DPPH^{\bullet}$  en todos los productos de procesamiento obtenidos mediante los diferentes métodos térmicos a los que fueron sometidas las muestras.

En general, se encontró que a mayor contenido de betalainas totales o compuestos fenólicos totales, la actividad antioxidante también será alta.

Tal y como se muestra en la tabla 3, se encontró una alta correlación entre los diferentes ensayos ( $r^2 > 0.8$ ). Lo cual significa que hay una relación muy estrecha entre el contenido compuestos fenólicos totales y las actividades antioxidantes. Es decir, que con los

resultados obtenidos se demuestra que efectivamente los procesamientos térmicos afectan de manera directa el contenido de betalainas totales y compuestos fenólicos totales, y por ende su capacidad antioxidante. Sin embargo, hay que tomar en cuenta que dicha consideración no sólo dependerá de la concentración de betalainas y de su contenido de antioxidantes, sino también de su interacción con otros componentes y la metodología aplicada.

**Tabla 3. Coeficiente de correlación (r) entre métodos.**

	<b>ABTS•<sup>+</sup></b>	<b>DPPH•</b>
<b>*BT</b>	0.842	0.945
<b>*CFT</b>	0.840	0.934

\*BT: betalainas totales; CFT: compuestos fenólicos totales.

La correlación existente entre el contenido de compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante es de  $r^2=0.84$  para el radical ABTS•<sup>+</sup> y  $r^2=0.934$  para el radical DPPH•. Lo que demuestra la alta capacidad antioxidante de las muestras de betabel, como lo mencionan Song y col. (2010) en un estudio realizado donde existe una correlación significativa entre el contenido de compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante, por medio del método ORAC (capacidad de absorción de radicales oxígeno).

Así mismo se encontró que el contenido de betalainas totales y compuestos fenólicos totales podrían ser un parámetro que nos indique la capacidad antioxidante de un betabel, además de las melanoidinas que se formaron debido a las reacciones Maillard de los azúcares presentes en el betabel que también poseen actividad antioxidante.

Sin embargo, la actividad antioxidante de las muestras de betabel se atribuye principalmente a la presencia de betalainas puesto que los fenoles se encuentran en menor proporción que ellas.

# Capítulo 4.

# Conclusiones

## **Conclusiones**

Los procesos térmicos utilizados en éste estudio afectan la concentración de betalainas, compuestos fenólicos totales y las propiedades antioxidantes de las muestras utilizadas.

Existe una correlación significativa entre el contenido de betalainas totales y compuestos fenólicos totales con la actividad antioxidante determinada por los ensayos de ABTS<sup>•+</sup> y DPPH<sup>•</sup>.

El tratamiento cáscara tostada presentó el mayor contenido de betalainas, compuestos fenólicos totales y la mayor inhibición de los radicales ABTS<sup>•+</sup> y DPPH<sup>•</sup>.

La formación de melanoidinas por acción de la reacción de pardeamiento no enzimático en las diferentes muestras del betabel, tuvo un alto impacto en los resultados encontrados, debido a la presencia de compuestos coloreados que pudieron afectar la medición de las distintas pruebas evaluadas.

# Sugerencias

La alta actividad antioxidante del tratamiento cáscara tostada es una buena base para impulsar el desarrollo de aditivos con una potencial aplicación en alimentos y la industria farmacéutica.

# Referencias



Adefegha, S. A., & Oboh, G. (2013). Cooking enhances the antioxidant properties of some tropical green leafy vegetables. *African Journal of Biotechnology*, 10(4), 632-639.

Arnao, M. B. (2000). Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. *Trends in Food Science & Technology*, 11(11), 419-421.

Avella, D. M. G., García, C. A. O., y Cisneros, A. M. (2008). Medición de fenoles y actividad antioxidante en malezas usadas para alimentación animal. *Universidad Autónoma de Queretano. México*.

Azeredo, H. (2009). Betalains: properties, sources, applications, and stability—a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(12), 2365-2376.

Badui-Dergal, S. (1999). *Química de los alimentos*. México: Pearson.

Cai, Y., Sun, M., & Corke, H. (2003). Antioxidant activity of betalains from plants of the Amaranthaceae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(8), 2288-2294.

Casseres, E. (1980). *Producción de hortalizas* (No. 42). Biblioteca Orton IICA/CATIE.

Chethana, S., Nayak, C. A., & Raghavarao, K. S. M. S. (2007). Aqueous two phase extraction for purification and concentration of betalains. *Journal of Food Engineering*, 81(4), 679-687.

Czapski, J., Mikołajczyk, K., & Kaczmarek, M. (2009). Relationship between antioxidant capacity of red beet juice and contents of its betalain pigments. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 59(2), 119-122.

Data, S. N., 2013. *Self Nutrition Data*. [Online]  
Available at: [www.nutritiondata.self.com](http://www.nutritiondata.self.com)  
[Accessed 30 Agosto 2013].

De Azeredo, H. M. C., Pereira, A. C., De Souza, A. C. R., Gouveia, S. T., & Mendes, K. C. B. (2009). Study on efficiency of betacyanin extraction from red beetroots. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(12), 2464-2469.

Dewanto, V., Wu, X., Adom, K. K., & Liu, R. H. (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(10), 3010-3014.

Dewanto, V., Wu, X., & Liu, R. H. (2002). Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(17), 4959-4964.

Gandía-Herrero, F., Escribano, J., & García-Carmona, F. (2009). The role of phenolic hydroxy groups in the free radical scavenging activity of betalains. *Journal of natural products*, 72(6), 1142-1146.

Gandía-Herrero, F., Escribano, J., & García-Carmona, F. (2012). Purification and antiradical properties of the structural unit of betalains. *Journal of Natural Products*, 75(6), 1030-1036.

Gasztonyi, M. N., Daood, H., Hajos, M. T., & Biacs, P. (2001). Comparison of red beet (*Beta vulgaris* var *conditiva*) varieties on the basis of their pigment components. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(9), 932-933.

Gimeno Creus, E. (2004). Compuestos fenólicos totales. Un análisis de sus beneficios para la salud. *Farmacia y Salud, Oficina de Farmacia*, 23, 80-84.

Gutiérrez Zavala, Á., Ledesma Rivero, L., García García, I., y Grajales Castillejos, O. (2007). Capacidad antioxidante total en alimentos convencionales y regionales de Chiapas, México. *Revista Cubana de Salud Pública*, 33(1), 0-0.

Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(6), 1841-1856.

Imeh, U., & Khokhar, S. (2002). Distribution of conjugated and free phenols in fruits: antioxidant activity and cultivar variations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(22), 6301-6306.

Jiménez, J. P. (2007). *Metodología para la evaluación de ingredientes funcionales antioxidantes efectos de fibra antioxidante de uva en status antioxidante y parámetros de riesgo cardiovascular en humanos* (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Madrid).

Jiratanan, T., & Liu, R. H. (2004). Antioxidant activity of processed table beets (*Beta vulgaris* var, *conditiva*) and green beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(9), 2659-2670.

Kim, D. O., Lee, K. W., Lee, H. J., & Lee, C. Y. (2002). Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(13), 3713-3717.

Kujala, T. S., Loponen, J. M., Klika, K. D., & Pihlaja, K. (2000). Phenolics and Betacyanins in Red Beetroot (*Beta vulgaris*) Root: Distribution and Effect of Cold Storage on the Content of Total Phenolics and Three Individual Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(11), 5338-5342.

Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., García-Parilla, M. C., Troncoso, A. M., y Fett, R. (2004). Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 24(4), 691-693.

Latorre, M. E., Narvaiz, P., Rojas, A. M., & Gerschenson, L. N. (2010). Effects of gamma irradiation on bio-chemical and physico-chemical parameters of fresh-cut red beet (*Beta vulgaris* L. var. *conditiva*) root. *Journal of Food Engineering*, 98(2), 178-191.

Lee, C. H., Wettasinghe, M., Bolling, B. W., Ji, L. L., & Parkin, K. L. (2005). Betalains, phase II enzyme-inducing components from red beetroot (*Beta vulgaris* L.) extracts. *Nutrition and cancer*, 53(1), 91-103.

Leopoldini, M., Russo, N., & Toscano, M. (2011). The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry*, 125(2), 288-306.

Leyva, D. E., 2009. *Determinación de antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante en licores y fruto de mora*. Oaxaca: UTM.

Łódzka, P., 2014. [Online]

Available at: <http://biofizyka.p.lodz.pl/prezentacje/IFE1.pdf>

[Accessed 10 Enero 2014].

Lopez-Martinez, L. X., Oliart-Ros, R. M., Valerio-Alfaro, G., Lee, C. H., Parkin, K. L., & Garcia, H. S. (2009). Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. *LWT-Food Science and Technology*, 42(6), 1187-1192.

López, N., Puértolas, E., Condón, S., Raso, J., & Alvarez, I. (2009). Enhancement of the extraction of betanine from red beetroot by pulsed electric fields. *Journal of food engineering*, 90(1), 60-66.

Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarín J Sci Technol*, 26(2), 211-219.

Montoya, B., Lemeshko, V., López, J. B., Pareja, A., Urrego, R., y Torres, R. (2003). Actividad antioxidante de algunos extractos vegetales. *Vitae*, 2, 10.

Moreno-Alvarez, M. J., Vilorio-Matos, A., Belén, D., y Douglas, R. (2002). Degradación de betalainas en remolacha (*Beta vulgaris* L.): Estudio cinético. *Rev. Cient. FCV-LUZ*, 12(2).

Moreno, M., Betancourt, M., Pitre, A., García, D., Belén, D., y Medina, C. (2007). Evaluación de la estabilidad de bebidas cítricas acondicionadas con dos fuentes naturales de betalaínas: tuna y remolacha. *Bioagro*, 19(3), 149-159.

Okawa, M., Kinjo, J., Nohara, T., & Ono, M. (2001). DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging activity of flavonoids obtained from some medicinal plants. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 24(10), 1202-1205.

Pellegrini, N., Serafini, M., Salvatore, S., Del Rio, D., Bianchi, M., & Brighenti, F. (2006). Total antioxidant capacity of spices, dried fruits, nuts, pulses, cereals and sweets consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *Molecular nutrition & food research*, 50(11), 1030-1038.

Prudencio, I. D., Prudêncio, E. S., Gris, E. F., Tomazi, T., & Bordignon-Luiz, M. T. (2008). Petit suisse manufactured with cheese whey retentate and application of betalains and anthocyanins. *LWT-Food Science and Technology*, 41(5), 905-910.

Ravichandran, K., Saw, N. M. M. T., Mohdaly, A. A., Gabr, A. M., Kastell, A., Riedel, H., ... & Smetanska, I. (2011). Impact of processing of red beet on betalain content and antioxidant activity. *Food Research International*.

Robbins, R. J. (2003). Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(10), 2866-2887.

SAGARPA, 2013. *Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación*. [Online]

Available at: [www.sagarpa.gob.mx](http://www.sagarpa.gob.mx)

[Accessed 02 Septiembre 2013].

Singh, H. P., Ravindranath, S. D., & Singh, C. (1999). Analysis of tea shoot catechins: spectrophotometric quantitation and selective visualization on two-dimensional paper chromatograms using diazotized sulfanilamide. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47(3), 1041-1045.

Song, W., Derito, C. M., Liu, M. K., He, X., Dong, M., & Liu, R. H. (2010). Cellular antioxidant activity of common vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(11), 6621-6629.

Stintzing, F. C., & Carle, R. (2004). Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. *Trends in Food Science & Technology*, 15(1), 19-38.

Stintzing, F. C., & Carle, R. (2007). Betalains—emerging prospects for food scientists. *Trends in Food Science & Technology*, 18(10), 514-525.

Sumaya-Martínez, M. T., Suárez-Diéguéz, T., Cruz-Cansino, N. D. S., Alanís-García, E., y Sampedro, J. G. (2010). Innovación de productos de alto valor agregado a partir de la tuna mexicana. *Rev. Mex. Agronegocios*, 27, 435-441.

Tong, V. T., Le Hong, N., & Sao Mai, D. (2011). Survey of the Betacyanin Extraction from the Skin of Vietnamese Dragon Fruit.

UC Davis, 2014. *UC Davis: Postharvest Technology*. [Online]  
Available at: <http://postharvest.ucdavis.edu/>  
[Accessed 10 April 2014].

Valls-Bellés, V., Torres, M. C., Muñiz, P., Boix, L., González-Sanjose, M. L., & Codoñer-Franch, P. (2004). The protective effects of melanoidins in adriamycin-induced oxidative stress in isolated rat hepatocytes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(13), 1701-1707.

Vásquez, J. B. M., Coronado, D. R. S., y Martínez, D. M. A. C. (2007). Evaluación de la actividad antioxidante de extractos orgánicos de semillas de *Heliocarpus terebinthinaceus*.

Wettasinghe, M., Bolling, B., Plhak, L., Xiao, H., & Parkin, K. (2002). Phase II enzyme-inducing and antioxidant activities of beetroot (*Beta vulgaris* L.) extracts from phenotypes of different pigmentation. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(23), 6704-6709.

Wootton-Beard, P. C., & Ryan, L. (2011). A beetroot juice shot is a significant and convenient source of bioaccessible antioxidants. *Journal of Functional Foods*, 3(4), 329-334.

Wybraniec, S., & Michałowski, T. (2011). New pathways of betanidin and betanin enzymatic oxidation. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(17), 9612-9622.

# Anexos

## **Anexo A**

### **Método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu.**

#### **Curva de calibración**

Los Compuestos fenólicos totales se determinaron mediante el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu usando el ácido gálico como material de referencia.

Para preparar la curva de calibración se siguió la metodología de (Avella, 2008), preparando una disolución patrón de ácido gálico de 0,1 g/L, para lo cual se pesaron 100 mg de ácido gálico, se colocaron en un matraz aforado de 100 mL y se llevó a su volumen con agua destilada, enseguida se preparó una dilución 1:10 con agua destilada (siempre utilizando una solución recién preparada).

De la misma manera se preparó una disolución de carbonato de sodio al 20 % pesando 20 g de carbonato de sodio en un matraz aforado de 100 mL, inicialmente se disolvió en 40 mL de agua destilada, finalmente se lleva a su volumen de aforo con agua.

Por otro lado se preparó una disolución 1N del reactivo de Folin-Ciocalteu, por medio de una dilución 1:2 del reactivo comercial (2N) en agua destilada; el reactivo se protegió de la luz.

A partir de la disolución patrón de ácido gálico, se hicieron las diluciones necesarias con agua destilada para obtener concentraciones de 0 mg/L, 1 mg/L, 2 mg/L, 3 mg/L, 4 mg/L y 5 mg/L para la preparación de la curva de calibración. Esto se realiza tomando respectivamente 20  $\mu$ L, 40  $\mu$ L, 60  $\mu$ L, 80  $\mu$ L y 100  $\mu$ L de la disolución patrón de ácido gálico de 0,1 g/L en tubos de ensaye de 13 mL, luego se adiciona a cada tubo, 250  $\mu$ L de reactivo de Folin-Ciocalteu 1N, se agitó vigorosamente en el equipo Vortex por 3 segundos, posteriormente se adicionan 1 250  $\mu$ L de la disolución de carbonato de sodio al 20 % a cada tubo, se llevaron a un volumen final de 2 mL con agua destilada y se dejó reposar por 2 h. También se prepara un blanco con todos los componentes excepto la disolución de ácido gálico. Finalmente se lee la absorbancia a 760 nm en el Espectrómetro UV-Visible.



Tabla 4. Curva de calibración para la determinación de compuestos fenólicos totales.

No.	Ac. Gálico, $\mu\text{L}$	Folin-Ciocalteu 1N, $\mu\text{L}$	Agitación	$\text{Na}_2\text{CO}_3$ 20%, $\mu\text{L}$	$\text{H}_2\text{O}$ destilada, $\mu\text{L}$
0	0	250	5 seg	1250	500
1	20	250	5 seg	1250	480
2	40	250	5 seg	1250	460
3	60	250	5 seg	1250	440
4	80	250	5 seg	1250	420
5	100	250	5 seg	1250	400

### Curva de calibración para determinar Compuestos Fenólicos Totales

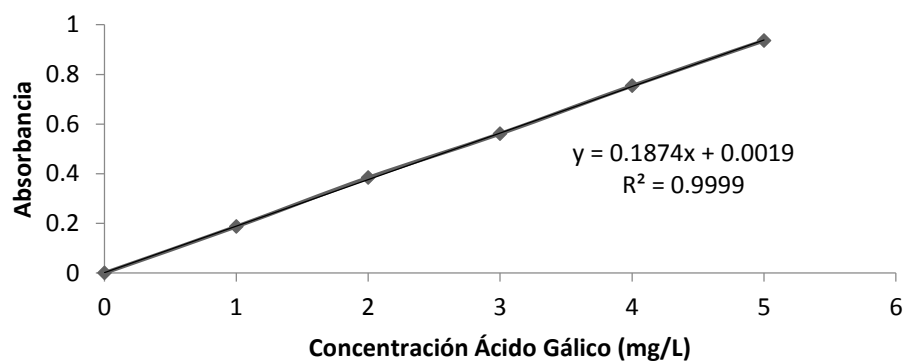


Figura 16. Curva de calibración para la determinación de compuestos fenólicos totales.

## Determinación de compuestos fenólicos totales.

Preparación de reactivos:

- Se preparó una disolución de carbonato de sodio al 20 % pesando 20 g de carbonato de sodio en un matraz aforado de 100 mL, inicialmente se disolvió en 40 mL de agua destilada y posteriormente se llevó a su volumen de aforo con agua.
- Se preparó una disolución 1N del reactivo de Folin-Ciocalteu, por medio de una dilución 1:1 del reactivo en agua destilada, midiendo 5 mL de reactivo y 5mL de agua destilada; la disolución se protegió de la luz.
- La alícuota se tomó directamente de los extractos, se tomaron 20 $\mu$ L de cada extracto por tratamiento y se le adicionaron las demás sustancias hasta completar las muestras en los tubos. Así mismo, se preparó un blanco.
- Se incubaron por 120 min a temperatura ambiente en aislamiento total de luz, posteriormente se leyeron en el espectrofotómetro a 760nm.

Tabla 5. Cuantificación en los extractos de compuestos fenólicos totales.

Muestra	$\mu$ L de muestra	Folin-Ciocalteu 1N, $\mu$ L	Agitación	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 20%, $\mu$ L	H <sub>2</sub> O destilada, $\mu$ L
Blanco	---	250	---	1250	500
Muestra de betabel*	20	250	5 segundos	1250	480

\*Muestras con tratamiento previo (Pulpa escaldada (PE), cáscara escaldada (CE), pulpa-cáscara escaldada (PCE), pulpa tostada (PT), cáscara tostada (CT), pulpa-cáscara tostada (PCT), pulpa escaldada-tostada (PET), cáscara escaldada-tostada (CET) y pulpa-cáscara escaldada-tostada (PCET).

El contenido de compuestos fenólicos totales de cada extracto es expresado en mg/0.1 g de muestra fresca, basándose en la curva de calibración del material de referencia de ácido gálico.

## Anexo B

### Contenido de betacianinas, betaxantinas, betalainas totales, compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de las diferentes muestras de betabel evaluadas.

Tabla 6. Contenido de betacianinas, betaxantinas y betalainas totales después de los tratamientos térmicos en las muestras de betabel (BC- betacianinas, BX- betaxantinas y BT- betalainas totales).

*Tratamientos	<sup>p</sup> BC	<sup>p</sup> BX	<sup>p</sup> BT
<b>PE</b>	66.61 ± 3.0 <sup>a</sup>	37.43 ± 0.4 <sup>a</sup>	104.04 ± 2.6 <sup>a</sup>
<b>CE</b>	146.67 ± 27.3 <sup>bc</sup>	89.62 ± 2.6 <sup>b</sup>	236.29 ± 26.1 <sup>cd</sup>
<b>PCE</b>	244.14 ± 3.8 <sup>e</sup>	130.26 ± 6.8 <sup>c</sup>	278.61 ± 6.5 <sup>d</sup>
<b>PT</b>	117.33 ± 4.6 <sup>ab</sup>	55.61 ± 0.4 <sup>a</sup>	172.95 ± 4.9 <sup>bc</sup>
<b>CT</b>	737.00 ± 24.8 <sup>f</sup>	359.98 ± 11.2 <sup>e</sup>	1096.98 ± 34.2 <sup>f</sup>
<b>PCT</b>	238.94 ± 32.9 <sup>de</sup>	161.70 ± 8.4 <sup>d</sup>	400.64 ± 28.9 <sup>e</sup>
<b>PET</b>	118.25 ± 9.9 <sup>ab</sup>	51.98 ± 1.3 <sup>a</sup>	170.23 ± 8.7 <sup>b</sup>
<b>CET</b>	187.92 ± 7.3 <sup>cd</sup>	90.69 ± 1.0 <sup>b</sup>	374.40 ± 4.5 <sup>e</sup>
<b>PCET</b>	89.22 ± 3.7 <sup>a</sup>	61.17 ± 3.2 <sup>a</sup>	150.39 ± 5.5 <sup>ab</sup>

<sup>a-g</sup> Letras diferentes en una misma columna significa que las medias difieren significativamente (P<0.05).

<sup>p</sup> Concentración expresada en mg / 100g de muestra fresca.

\*PE: pulpa escaldada; CE: cáscara escaldada; PCE: pulpa y cáscara escaldada; PT: pulpa tostada; CT: cáscara tostada; PCT: pulpa y cáscara tostada; PET: pulpa escaldada-tostada; CET: cáscara escaldada-tostada; y PCET: pulpa y cáscara escaldada-tostada.

**Tabla 7. Contenido de compuestos fenólicos totales (CFT) después de los tratamientos térmicos en las muestras de betabel.**

Tratamientos	<sup>p</sup> CFT
<i>PE</i>	60.05 ± 2.0 <sup>a</sup>
<i>CE</i>	138.50 ± 20.1 <sup>bc</sup>
<i>PCE</i>	217.85 ± 3.3 <sup>c</sup>
<i>PT</i>	100.25 ± 4.0 <sup>ab</sup>
<i>CT</i>	633.24 ± 9.6 <sup>e</sup>
<i>PCT</i>	229.52 ± 33.2 <sup>d</sup>
<i>PET</i>	96.34 ± 4.6 <sup>ab</sup>
<i>CET</i>	161.05 ± 5.1 <sup>d</sup>
<i>PCET</i>	86.93 ± 0.4 <sup>ab</sup>

<sup>a-f</sup> Letras diferentes en una misma columna significa que las medias difieren significativamente (P<0.05).

<sup>p</sup> Concentración expresada en mg EAG / 100g de muestra fresca.

\*PE: pulpa escaldada; CE: cáscara escaldada; PCE: pulpa y cáscara escaldada; PT: pulpa tostada; CT: cáscara tostada; PCT: pulpa y cáscara tostada; PET: pulpa escaldada-tostada; CET: cáscara escaldada-tostada; y PCET: pulpa y cáscara escaldada-tostada.

**Tabla 8. Contenido de betacianinas, betaxantinas y betalainas totales después de los tratamientos térmicos (CT, PCT y CET) en las muestras de betabel (BC- betacianinas, BX- betaxantinas y BT- betalainas totales).**

Tratamiento	<sup>p</sup> BC	<sup>p</sup> BX	<sup>p</sup> BT
<i>CT</i>	623.33 ± 27.5 <sup>c</sup>	220.31 ± 9.8 <sup>c</sup>	843.64 ± 37.2 <sup>c</sup>
<i>PCT</i>	339.17 ± 18.3 <sup>b</sup>	115.50 ± 6.4 <sup>b</sup>	454.67 ± 24.8 <sup>b</sup>
<i>CET</i>	158.89 ± 21.2 <sup>a</sup>	44.92 ± 11.1 <sup>a</sup>	203.81 ± 18.3 <sup>a</sup>

<sup>a-c</sup> Letras diferentes en una misma columna significa que las medias difieren significativamente (P<0.05).

<sup>p</sup> Concentración expresada en mg / 100g de muestra fresca.

\*CT: cáscara tostada; PCT: pulpa-cáscara tostada y CET: cáscara escaldada-tostada.

**Tabla 9. Contenido de compuestos fenólicos totales (CFT) después de los tratamientos térmicos (CT, PCT y CET) en las muestras de betabel.**

<b>Tratamiento</b>	<b><sup>P</sup>CFT</b>
<b><i>CT</i></b>	649.77 ± 46.6 <sup>c</sup>
<b><i>PCT</i></b>	331.38 ± 10.7 <sup>b</sup>
<b><i>CET</i></b>	132.16 ± 18.7 <sup>a</sup>

<sup>a-c</sup> Letras diferentes en una misma columna significa que las medias difieren significativamente (P<0.05).

<sup>P</sup> Concentración expresada en mg EAG / 100g de muestra fresca.

\*CT: cáscara tostada; PCT: pulpa-cáscara tostada y CET: cáscara escaldada-tostada.

**Tabla 10. Actividad antioxidante después de los tratamientos térmicos (CT, PCT y CET) en las muestras de betabel por el método ABTS<sup>•+</sup> y DPPH<sup>•</sup>**

<b>Tratamiento</b>	<b><sup>P</sup>ABTS<sup>•+</sup></b>	<b><sup>P</sup>DPPH<sup>•</sup></b>
<b><i>CT</i></b>	74.35 ± 1.0 <sup>c</sup>	78.98 ± 0.5 <sup>c</sup>
<b><i>PCT</i></b>	69.46 ± 0.3 <sup>b</sup>	65.51 ± 0.3 <sup>b</sup>
<b><i>CET</i></b>	28.74 ± 0.3 <sup>a</sup>	38.43 ± 0.6 <sup>a</sup>

<sup>a-d</sup> Letras diferentes en una misma columna significa que las medias difieren significativamente (P<0.05).

<sup>P</sup> Porcentaje de inhibición.

\*CT: cáscara tostada; PCT: pulpa-cáscara tostada y CET: cáscara escaldada-tostada.

## Anexo C

### ANOVA de comparación de medias entre los diferentes tratamientos aplicados a las muestras de betabel.

**Tabla 11. Análisis de varianza (ANOVA) de los tratamientos (PE: pulpa escaldada; CE: cáscara escaldada; PCE: pulpa y cáscara escaldada; PT: pulpa tostada; CT: cáscara tostada; PCT: pulpa y cáscara tostada; PET: pulpa escaldada-tostada; CET: cáscara escaldada-tostada; y PCET: pulpa y cáscara escaldada-tostada).**

		ANOVA				
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
BC	Inter-grupos	1314423.511	9	146047.057	424.444	.000
	Intra-grupos	6881.806	20	344.090		
	Total	1321305.317	29			
BX	Inter-grupos	260039.354	9	28893.262	374.922	.000
	Intra-grupos	1541.296	20	77.065		
	Total	261580.651	29			
BT	Inter-grupos	2702334.062	9	300259.340	610.262	.000
	Intra-grupos	9840.350	20	492.017		
	Total	2712174.412	29			
CFT	Inter-grupos	894708.183	9	99412.020	419.509	.000
	Intra-grupos	4739.443	20	236.972		
	Total	899447.626	29			

**Tabla 12. Comparación de medias por el método Tukey para BC (betacianinas) de los tratamientos (PE: pulpa escaldada; CE: cáscara escaldada; PCE: pulpa y cáscara escaldada; PT: pulpa tostada; CT: cáscara tostada; PCT: pulpa y cáscara tostada; PET: pulpa escaldada-tostada; CET: cáscara escaldada-tostada; y PCET: pulpa y cáscara escaldada-tostada).**

Tratamientos		Subconjunto para alfa = 0.05							
		N	1	2	3	4	5	6	
HSD de Tukey <sup>a</sup>	PE	3	66.6100						
	PCET	3	89.2200						
	PT	3	117.3333	117.3333					
	PET	3	118.2500	118.2500					
	CE	3		146.6667	146.6667				
	CET	3			187.9200	187.9200			
	PCT	3				238.9433	238.9433		
	PCE	3					244.1400		
	CT	3						737.0000	
	Sig.			.065	.647	.229	.071	1.000	1.000

**Tabla 13. Comparación de medias por el método Tukey para BX (betaxantinas) de los tratamientos (PE: pulpa escaldada; CE: cáscara escaldada; PCE: pulpa y cáscara escaldada; PT: pulpa tostada; CT: cáscara tostada; PCT: pulpa y cáscara tostada; PET: pulpa escaldada-tostada; CET: cáscara escaldada-tostada; y PCET: pulpa y cáscara escaldada-tostada).**

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
HSD de Tukey <sup>a</sup> PE	3	37.4333				
PET	3	51.9767				
PT	3	55.6133				
PCET	3	61.1733				
CE	3		89.6200			
CET	3		90.6900			
PCE	3			130.2600		
PCT	3				161.7000	
CT	3					359.9767
Sig.		.079	1.000	1.000	1.000	1.000

**Tabla 14. Comparación de medias por el método Tukey para BT (betalainas totales) de los tratamientos (PE: pulpa escaldada; CE: cáscara escaldada; PCE: pulpa y cáscara escaldada; PT: pulpa tostada; CT: cáscara tostada; PCT: pulpa y cáscara tostada; PET: pulpa escaldada-tostada; CET: cáscara escaldada-tostada; y PCET: pulpa y cáscara escaldada-tostada).**

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
HSD de Tukey <sup>a</sup> PE	3	104.0433					
PCET	3	150.3933	150.3933				
PET	3		170.2267				
PT	3		172.9467	172.9467			
CE	3			236.2867	236.2867		
PCE	3				278.6100		
CET	3					374.4000	
PCT	3					400.6433	
CT	3						1096.9767
Sig.		.297	.955	.055	.409	.897	1.000



**Tabla 15. Comparación de medias por el método Tukey para CFT (compuestos fenólicos totales) de los tratamientos (PE: pulpa escaldada; CE: cáscara escalda; PCE: pulpa y cáscara escaldada; PT: pulpa tostada; CT: cáscara tostada; PCT: pulpa y cáscara tostada; PET: pulpa escaldada-tostada; CET: cáscara escaldada-tostada; y PCET: pulpa y cáscara escaldada-tostada).**

Tratamientos	Subconjunto para alfa = 0.05					
	N	1	2	3	4	5
HSD de Tukey <sup>a</sup> PE	3	59.6500				
PCET	3	86.2500	86.2500			
PET	3	96.4667	96.4667			
PT	3	100.2900	100.2900			
CE	3		127.9067	127.9067		
PCE	3			160.7533		
CET	3				215.9133	
PCT	3				229.7033	
CT	3					632.9267
Sig.		.092	.079	.273	.979	1.000

**Tabla 16. Análisis de varianza (ANOVA) de los 3 tratamientos (CT: cáscara tostada; PCT: pulpa-cáscara tostada y CET: cáscara escaldada-tostada).**

ANOVA						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
BC	Inter-grupos	329011.385	3	109670.462	252.625	.000
	Intra-grupos	3472.985	8	434.123		
	Total	332484.370	11			
BX	Inter-grupos	46866.472	3	15622.157	206.903	.000
	Intra-grupos	604.037	8	75.505		
	Total	47470.509	11			
BT	Inter-grupos	623986.204	3	207995.401	303.183	.000
	Intra-grupos	5488.316	8	686.039		
	Total	629474.520	11			
CFT	Inter-grupos	410512.603	3	136837.534	142.390	.000
	Intra-grupos	7688.038	8	961.005		
	Total	418200.641	11			
ABTS	Inter-grupos	3852.991	3	1284.330	3076.425	.000
	Intra-grupos	3.340	8	.417		
	Total	3856.331	11			
DPPH	Inter-grupos	2561.979	3	853.993	3107.878	.000
	Intra-grupos	2.198	8	.275		
	Total	2564.178	11			

**Tabla 17. Comparación de medias por el método Tukey para BC (betacianinas) de los 3 tratamientos (CT: cáscara tostada; PCT: pulpa-cáscara tostada y CET: cáscara escaldada-tostada).**

Tratamiento	Subconjunto para alfa = 0.05			
	N	1	2	3
HSD de Tukey <sup>a</sup> CET	3	158.8900		
PCT	3		339.1667	
CT	3			623.3300
Sig.		1.000	.169	1.000

**Tabla 18. Comparación de medias por el método Tukey para BX (betaxantinas) de los 3 tratamientos (CT: cáscara tostada; PCT: pulpa-cáscara tostada y CET: cáscara escaldada-tostada).**

Tratamiento	Subconjunto para alfa = 0.05			
	N	1	2	3
HSD de Tukey <sup>a</sup> CET	3	44.9167		
PCT	3		115.5000	
CT	3			220.3067
Sig.		1.000	.100	1.000

**Tabla 19. Comparación de medias por el método Tukey para BT (betalainas totales) de los 3 tratamientos (CT: cáscara tostada; PCT: pulpa-cáscara tostada y CET: cáscara escaldada-tostada).**

Tratamiento	Subconjunto para alfa = 0.05			
	N	1	2	3
HSD de Tukey <sup>a</sup> CET	3	203.8067		
PCT	3		454.6700	
CT	3			843.6367
Sig.		1.000	.094	1.000

**Tabla 20. Comparación de medias por el método Tukey para CFT (compuestos fenólicos totales) de los 3 tratamientos (CT: cáscara tostada; PCT: pulpa-cáscara tostada y CET: cáscara escaldada-tostada).**

Tratamiento	Subconjunto para alfa = 0.05			
	N	1	2	3
HSD de Tukey <sup>a</sup> CET	3	132.1600		
PCT	3		331.3767	
CT	3			649.7700
Sig.		1.000	.117	1.000

**Tabla 21. Comparación de medias por el método Tukey para ABTS•+ de los 3 tratamientos (CT: cáscara tostada; PCT: pulpa-cáscara tostada y CET: cáscara escaldada-tostada).**

Tratamiento	Subconjunto para alfa = 0.05			
	N	1	2	3
HSD de Tukey <sup>a</sup> CET	3	28.7433		
PCT	3		69.4633	
CT	3			74.3467
Sig.		1.000	1.000	1.000

**Tabla 22. Comparación de medias por el método Tukey para DPPH• de los 3 tratamientos (CT: cáscara tostada; PCT: pulpa-cáscara tostada y CET: cáscara escaldada-tostada).**

Tratamiento	Subconjunto para alfa = 0.05			
	N	1	2	3
HSD de Tukey <sup>a</sup> CET	3	38.4300		
PCT	3		65.5100	
CT	3			78.9833
Sig.		1.000	1.000	1.000