

EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DE BEBIDAS CÍTRICAS ACONDICIONADAS CON DOS FUENTES NATURALES DE BETALAÍNAS: TUNA Y REMOLACHA

Mario Moreno¹, María Betancourt², Alberto Pitre², David García¹,
Douglas Belén¹ y Carlos Medina¹

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue la evaluación microbiológica, físico-química y sensorial, así como la determinación de la degradación de pigmentos y vida útil de productos cítricos acondicionados con pulpas con alto contenido de betalainas. Se elaboraron seis bebidas cítricas pasteurizadas a base de naranja (N), toronja (G) y dos fuentes de betalainas: pulpa de la tuna (T) *Opuntia elatior* Miller y raíces de remolacha (R) *Beta vulgaris* L. Se emplearon las siguientes formulaciones: F-I con 5 % T, 15 % N, 15 % G y agua sin adición de ácido ascórbico (AA); F-II con 5 % T, 15 % N, 15 % G y agua con adición de 1 % AA; F-III con 5 % R, 15 % N, 15 % G y agua sin adición de AA; F-IV con 5 % R, 15 % N, 15 % G y agua con adición de 1 % AA; F-V con 15 % N, 15 % G y agua sin adición de AA; y F-VI con 15 % N, 15 % G y agua con adición de 1 % de AA. Todos los parámetros físico-químicos presentaron diferencias significativas ($P \leq 0,05$) durante las cuatro evaluaciones realizadas con intervalo semanal. Según la prueba no paramétrica de Friedman se determinó que la formulación con remolacha resultó con la mayor aceptación en cuanto al color y la formulación con pulpa de tuna y ácido ascórbico la mejor con respecto al sabor. Se concluye que las betalainas en las bebidas mostraron estabilidad química durante el tiempo de estudio y que existe factibilidad técnica de elaborar bebidas cítricas pasteurizadas pigmentadas fuentes naturales tales como pulpa de tuna y raíz de remolacha.

Palabras clave adicionales: *Beta*, *Opuntia*, Cactaceae, pigmentos, bebidas

ABSTRACT

Stability evaluation of citric beverages pigmented with natural sources of betalains: tuna pulp and beetroot

The objective of this research was to conduct microbiological, physicochemical and sensorial evaluation of pasteurized citrus beverages prepared with vegetal sources of high betalain content, along with determination of the half life and pigment degradation. Six citrus beverages were formulated with orange (O), grapefruit (G), and two sources of betalains: tuna (T, *Opuntia elatior* Miller) and beetroot (B, *Beta vulgaris* L.). The following formulations were used: F-I with T 5 %, O 15 %, G 15 % plus water without addition of ascorbic acid (AA); F-II with T 5 %, O 15 %, G 15 % plus water with 1 % AA addition; F-III with B 5 %, O 15 %, G 15 % plus water without AA addition; F-IV (B 5 %, O 15 %, G 15 % plus water with 1 % AA addition; F-V (O 15 %, G 15 % plus water without AA addition; and F-VI (O 15 %, G 15 % plus water with 1 % AA addition. All physicochemical parameters showed significant differences ($P \leq 0.05$) in the four evaluations performed at weekly intervals. According to the Friedman non-parametric test it was found preference by color of formulation with beetroot while formulation with tuna and AA had more acceptance by taste. It was concluded that betalains in the beverages showed chemical stability during the evaluation period and that it is technologically feasible the production of pasteurized citrus beverages pigmented with natural sources such as tuna pulp and beetroot.

Additional key words: *Beta*, *Opuntia*, Cactaceae, pigment, beverages

INTRODUCCIÓN

Las betalainas son pigmentos de origen vegetal localizados en hojas, raíces y frutos. Químicamente son moléculas hidrosolubles,

derivados del ácido betalámico que presentan estructura de glicósidos; sin embargo, por ser metabolitos con alta sensibilidad química su aprovechamiento se encuentra limitado ya que se ven afectadas por la oxidación promovida por el

Recibido: Febrero 1, 2007

Aceptado: Octubre 12, 2007

¹ Laboratorio de Biomoléculas, Universidad Nacional Experimental "Simón Rodríguez". Canoabo, estado Carabobo. Venezuela. e-mail: morenoalvarez@cantv.net

² Facultad de Ingeniería Química, Universidad de Carabobo. Valencia. Venezuela.

oxígeno y otros agentes (Odox y Domínguez-López, 1996; Delgado-Vargas et al., 2000). Las betalaínas pertenecen a los cinco aditivos colorantes de origen natural más ampliamente utilizados en alimentos, principalmente en productos cárnicos a base de soya, embutidos y productos lácteos (Barrera et al., 1998). Estos metabolitos son beneficiosos para la salud ya que presentan efectos antimicrobianos, antioxidantes, anticancerígenos, intervienen en la disminución de los triglicéridos, control de la glucemia y contribuyen a combatir la arteroesclerosis (Joubert, 1993; Kanner et al., 2001; Butera et al., 2002). Poseen además un valor importante para la industria como pigmentante natural, en especial porque los colorantes sintéticos son cada vez más cuestionados por su vinculación con numerosos efectos negativos a la salud, aparte de los costos. Las principales fuentes vegetales de betalaínas son la raíces de *Beta vulgaris*, el tallo de *Amaranthus* y los frutos de las especies del género *Opuntia*. Odox y Domínguez-López (1996) señalan que el contenido de betalaínas *Opuntia ficus indica* es de 4,1 mg·100 g⁻¹ y el de *O. robusta robusta* es 86,1 mg·100 g⁻¹, lo cual indica la presencia de estos metabolitos en importantes concentraciones.

Dentro de las Cactaceae diversas especies del género *Opuntia* han sido objeto de estudio, con la finalidad de no sólo aprovechar las betalaínas por sus beneficios a la salud, sino de encontrarles aplicabilidad en la confección de diferentes productos alimenticios (Sáenz, 1997; Sáenz et al., 1998; Sepúlveda et al., 2000), permitiendo la utilización de especies con poca utilidad comercial.

Las bebidas pasteurizadas de jugo de naranja y néctares de diferentes frutas solas o en mezclas presentan una gran demanda en el mercado (COVENIN, 1995). Moreno-Álvarez et al. (2003) establecieron la factibilidad tecnológica de la utilización de pulpa *O. boldinghii* en la confección de bebidas pigmentadas tratadas con diferentes concentraciones de ácido ascórbico.

Las raíces de remolacha (*Beta vulgaris* L.) contienen pigmentos del grupo de las betalaínas, que han sido consideradas de gran interés alimentario, destacando las betacianinas y las betaxantinas, los cuales tienen utilidad como sustitutos de colorantes artificiales en diversos alimentos, siendo aceptados por la Comunidad Económica Europea, donde se les clasifica como

rojo remolacha, producido por deshidratación y pulverización de *B. vulgaris* (Moreno-Álvarez et al., 2002a).

El objetivo de esta investigación fue el formular bebidas cítricas con dos fuentes de betalaínas: pulpa de la tuna *Opuntia elatior* Miller (especie distribuida en los ecosistemas áridos y semiáridos en forma silvestre y sin ninguna aplicabilidad industrial) y raíces de remolacha. A este respecto se evaluaron parámetros físico-químicos, microbiológicos, sensoriales y la cinética de degradación de las betalaínas con el fin de establecer la factibilidad técnica de elaboración de este tipo de bebidas, de valores nutricionales importantes, y con poca explotación en el país.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron frutos de *O. elatior* (3 kg) en el municipio Miranda, sector Sabaneta, del estado Carabobo, Venezuela, los cuales cumplían los criterios de madurez de consumo y color rojo homogéneo, sin rastros de deterioro. Los frutos presentaron un peso promedio de 20 g y fueron envasados en un contenedor de poliestireno de 10 L de capacidad al cual se le incorporó CO₂(s), para garantizar una temperatura cercana a 7 °C durante el transporte desde el sitio de colecta hasta el laboratorio. En el laboratorio las muestras fueron lavadas con agua corriente y se cortaron en trozos pequeños para someterlos a un extractor de zumo (Eastern Electric mod. JX 5000) previa remoción manual de las espinas, separando cáscara y semilla de la pulpa. Las raíces de remolacha fueron adquiridas en un establecimiento comercial considerando que tuviesen un grado de madurez adecuado para el consumo, color homogéneo y sin rastros de deterioro (Moreno-Álvarez et al., 2002a); éstas fueron lavadas, cortadas en trozos y procesadas mediante un extractor de pulpa (Dixie Canner mod. 17 con malla de 0,60 mm). Las raíces de remolacha y los frutos de tuna fueron escaldados a una temperatura de 75 ± 1 °C por 2 minutos, antes del proceso de obtención de la pulpa y la remoción de las espinas en el caso de la tuna.

Los frutos de naranja (*Citrus sinensis* L.) variedad Valencia y toronja (*Citrus paradise* L.) se cosecharon en una plantilla agrícola ubicada en el municipio Montalbán, estado Carabobo,

considerando criterios de no presentar daños físicos aparentes, madurez de consumo y sin rastros aparentes de clorofila (Moreno-Álvarez et al., 1999). A los frutos se le eliminaron partículas extrañas e indeseables mediante un lavador rotatorio (Sinclair-Scott mod. DR-400) para luego efectuar la extracción del jugo.

Caracterización físico-química y microbiológica de los frutos

La determinación de pH y acidez total titulable se realizó según método de la AOAC (1990) usando un potenciómetro con precisión de 0,01 unidades de pH. Los sólidos solubles totales (SST) fueron leídos en un refractómetro Baush y Lomb mod. Abbe-3L de precisión 0,01 °Brix. La concentración de carotenoides totales se calculó mediante curva patrón ($Y=0,029+38,138X$) a 440 nm con espectrofotómetro Baush y Lomb. Las betalaínas se determinaron a 540 nm en pH 6,1 según procedimiento establecido por Sapers y Hornstein (1979). La vitamina C fue cuantificada mediante el método volumétrico del 2,6 dicloro indofenol (COVENIN, 1977). Se efectuaron determinaciones de microorganismos aerobios

mesófilos (COVENIN, 1978a), mohos (COVENIN, 1978b), levaduras (COVENIN, 1978b) y coliformes totales (COVENIN, 1984).

Formulación de los jugos

Se elaboraron seis formulaciones de jugos (Cuadro 1). Se añadió sacarosa comercial para un valor final de 11 °Brix en cada tratamiento, independientemente de la presencia de tuna o remolacha. Las formulaciones II, IV y VI fueron acondicionados con ácido ascórbico. La concentración de pulpa de frutos utilizada se basó en una investigación previa desarrollada por Moreno-Álvarez et al. (2003) con pulpa de *O. boldinghii* utilizada en la pigmentación de bebidas cítricas.

Proceso de pasteurización

Las diferentes formulaciones se procesaron en un equipo pasteurizador de tacho abierto (Dover mod. TDB/7-20) con capacidad para 18 L, a una temperatura de $60 \pm 0,1$ °C por 30 minutos; culminado el proceso los productos se envasaron en botellas esterilizadas de vidrio color ámbar de 250 mL de capacidad. Los productos se almacenaron a $7 \pm 0,1$ °C durante 21 días.

Cuadro 1. Composición de las formulaciones de las bebidas cítricas evaluadas en este ensayo

Formulación	Pulpa de tuna (%)	Pulpa de remolacha (%)	Jugo (%)		Agua (%)	Ácido ascórbico añadido (%)
			Naranja	Toronja		
I	5	-	15	15	65	-
II	5	-	15	15	65	1
III	-	5	15	15	65	-
IV	-	5	15	15	65	1
V	-	-	15	15	70	-
VI	-	-	15	15	70	1

Caracterización físico-química y microbiológica de los productos terminados

Las bebidas cítricas pasteurizadas se evaluaron semanalmente mediante análisis de SST, pH, acidez total titulable, carotenoides totales, betalaínas, vitamina C, mesófilos, mohos, levaduras y coliformes totales mediante los mismos métodos y equipos antes señalados.

Evaluación sensorial

La escala hedónica utilizada en este estudio fue propuesta por el CIEPE (1984) y se evaluaron los parámetros de color, sabor y olor, mediante escala ordinal de aceptación, cuya

valoración fue: (1) le gusta, (2) no le gusta y (3) indeciso. El número de consumidores fue de 40 personas (con edades comprendidas entre 19 y 23 años), todos estudiantes del núcleo Canoabo de la Universidad Nacional Experimental “Simón Rodríguez”, en el estado Carabobo. Los parámetros se evaluaron durante cuatro semanas continuas (paralelamente a las evaluaciones físico-químicas y microbiológicas) para determinar cuál de las bebidas resultaba con la mayor aceptación.

Degradación de betalaínas y vida útil de las bebidas

Para determinar la degradación de las

betalaínas (pigmento mayoritario) en el tiempo, se midió la absorbancia mediante el espectrofotómetro a 540 nm y posteriormente se graficó la concentración de betalaínas totales en función de los días de almacenamiento refrigerado. Se determinó el orden de la degradación de las betalaínas en base a los criterios de Cantillo et al. (1994). Una vez calculado el orden de degradación de los pigmentos se determinaron los valores de las constantes de velocidad (k), calculados como las pendientes de las gráficas anteriormente descritas, y los tiempos de vida media del pigmento según el orden de reacción, en cada formulación.

Análisis estadístico de los parámetros físico-químicos y sensoriales

Los resultados de cada uno de los tratamientos físico-químicos se evaluaron mediante análisis de varianza mediante el paquete estadístico SAS versión 6.0 (Cary, NC). El análisis sensorial se evaluó mediante la prueba no paramétrica de Friedman utilizando el mismo paquete estadístico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los Cuadros 2 y 3 se presentan los resultados de la caracterización físico-química y la

evaluación microbiológica de la materia prima, respectivamente. Los valores de pH, sólidos solubles, betalaínas y acidez total titulable para la pulpa de tuna son similares a los señalados por Domínguez-López (1996) y Sáenz (1997) para *Opuntia ficus indica*. Los contenidos de vitamina C y carotenoides totales no presentan mayores diferencias con los señalados por Moreno-Álvarez et al. (2003) para *Opuntia boldinghii*. En la remolacha los valores obtenidos son similares a los indicados por el INN (2001). En lo que respecta al zumo de naranja y toronja, los valores de pH, acidez titulable, sólidos solubles y carotenoides son similares a los señalados por otros autores para muestras colectadas en áreas geográficas comunes (Moreno-Álvarez et al., 2003; Moreno-Álvarez et al., 2004a). El valor de vitamina para ambas frutas difiere de los señalados por Vélez y Vélez (1990), diferencia que puede estar relacionada con factores como el índice de madurez o la época de colecta. El recuento de aerobios mesófilos, levaduras y mohos es similar a los señalados por diferentes autores para frutos en épocas de recolección; estando dentro de los estándares considerados como aptos para ser utilizados como materias primas (Moreno-Álvarez et al., 2002b; Frazier y Westhoff, 2003; Moreno-Álvarez et al., 2004b).

Cuadro 2. Caracterización física y química de la materia prima utilizada para preparar las bebidas cítricas evaluadas en este ensayo (n = 3)

Parámetro	Tuna	Remolacha	Naranja	Toronja
pH	5,62 ± 0,20	6,05 ± 0,01	3,90 ± 0,01	3,63 ± 0,01
Acidez total titulable (g de ácido cítrico·100 g ⁻¹ de pulpa)	0,11 ± 0,02	0,16 ± 0,03	0,72 ± 0,04	0,37 ± 0,04
Sólidos solubles (°Brix)	1,2 ± 0,1	10,0 ± 0,1	9,0 ± 0,1	11,0 ± 0,1
Vitamina C (mg de ácido ascórbico·100 g ⁻¹ de pulpa)	13,01 ± 0,06	29,11 ± 0,02	57,20 ± 0,09	69,04 ± 0,03
Betalaínas (mg·100 g ⁻¹ de pulpa)	6,70 ± 0,01	6,92 ± 0,01	ND	ND
Carotenoides (mg·100 g ⁻¹ de pulpa)	0,250 ± 0,001	0,430 ± 0,01	1,350±0,001	0,912±0,003

ND Valores no determinados

Cuadro 3. Caracterización microbiológica de la materia prima utilizada para preparar las bebidas cítricas evaluadas en este ensayo

Análisis	Tuna	Remolacha	Naranja	Toronja
Aerobios mesófilos (UFC·mL ⁻¹)	206·10 ³	218·10 ³	15	20
Levaduras (UFC·mL ⁻¹)	540	1500	30	100
Mohos (UFC·mL ⁻¹)	160	62500	900	260
Coliformes totales (NMP·mL ⁻¹)	< 3	< 3	< 3	< 3

NMP: números más probable

UFC: Unidades formadoras de colonias

Con relación a la caracterización físico-química de las bebidas elaboradas, las seis

formulaciones presentaron un valor de pH comprendido entre 3,32 y 3,68 (Cuadro 4), con

tendencia a disminuir en el tiempo. Estos valores son similares a los obtenidos para bebidas cítricas pigmentadas con pulpa de *O. boldinghii* (Moreno-Alvarez et al., 2003). La acidez total titulable en las formulaciones I, III, IV y V no mostró diferencias significativas ($P>0,05$). Las formulaciones II y VI no presentaron igual

comportamiento a partir de la tercera y cuarta semana de haberse efectuado la pasteurización, ya que se evidenciaron diferencias significativas ($P\leq 0,05$); sin embargo, los resultados permiten inferir una importante estabilidad química de las bebidas y un adecuado proceso de pasteurización.

Cuadro 4. Evolución durante tres semanas de las características físicas y químicas de seis formulaciones de bebidas cítricas acondicionadas con pulpa de tuna y remolacha ($n = 3$)

Parámetro	Semana	Formulación					
		I	II	III	IV	V	VI
pH	0	3,68 a	3,42 a	3,68 a	3,35 a	3,56 a	3,53 a
	1	3,67 b	3,40 b	3,67 b	3,34 b	3,54 b	3,51 b
	2	3,66 c	3,38 c	3,65 c	3,33 b	3,52 c	3,50 b
	3	3,65 d	3,37 d	3,63 d	3,32 c	3,50 d	3,48 c
Acidez titulable (g de ácido cítrico·100 mL ⁻¹ de jugo)	0	0,40 a	0,60 a	0,40 a	0,80 a	0,40 a	0,70 a
	1	0,40 a	0,60 a	0,40 a	0,80 a	0,40 a	0,70 a
	2	0,40 a	0,71 b	0,40 a	0,80 a	0,40 a	0,70 a
	3	0,40 a	0,71 b	0,40 a	0,80 a	0,40 a	0,80 b
Carotenoides totales (mg·100 mL ⁻¹ de jugo)	0	0,821 a	0,892 a	0,607 a	0,560 a	1,069 a	0,915 a
	1	0,749 b	0,880 b	0,465 b	0,536 a	0,773 b	0,892 a
	2	0,607 c	0,785 c	0,406 b	0,500 a	0,702 c	0,607 b
	3	0,406 d	0,501 d	0,252 c	0,394 b	0,548 d	0,430 c
Betaínas (mg·100 mL ⁻¹ de jugo)	0	0,86 a	0,93 a	1,02 a	1,10 a		
	1	0,86 a	0,93 a	0,98 a	1,10 a		
	2	0,76 b	0,81 b	0,86 b	1,03 a	—	—
	3	0,62 c	0,70 c	0,66 c	0,83 b		
Vitamina C (mg de ácido ascórbico·100 mL ⁻¹ de jugo)	0	55,40 a	62,50 a	64,31 a	66,00 a	53,71 a	57,20 a
	1	53,70 b	61,62 b	63,48 a	65,12 b	52,83 b	54,55 b
	2	52,86 b	60,71 b	58,10 b	62,50 c	48,44 b	53,74 c
	3	51,10 c	59,01 c	56,33 b	60,71 d	46,77 c	52,81 c

Letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas ($P\leq 0,05$)

El contenido de vitamina C, carotenoides totales y betaínas presentaron degradación a lo largo del estudio ($P\leq 0,05$); este comportamiento se ha observado en bebidas similares y se ha interpretado como el efecto del oxígeno presente en los espacios de cabeza de los envases, al igual que la acción de los radicales libres y trazas de minerales que causan una degradación acelerada de estos metabolitos (Moreno-Álvarez et al., 2003). Se logró determinar que el contenido de carotenoides totales y betaínas fue mayor en aquellas bebidas con adición de ácido ascórbico, lo cual permite evidenciar un efecto protector.

Algunos estudios han señalado que el ácido ascórbico permite la quelación de iones y es considerado como un adecuado estabilizante y antioxidante (Moreno-Álvarez et al., 2003).

En las formulaciones I, II y III no hubo variación en la concentración de betaínas en la primera semana pero luego experimentaron cambios significativos ($P\leq 0,05$) en las semanas 2 y 3. La formulación IV mostró estabilidad en la concentración en las dos primeras semanas de almacenamiento, pero luego mostró cambios significativos ($P\leq 0,05$). Los resultados evidencian que los metabolitos contenidos en las bebidas

fueron químicamente estables durante la primera semana de almacenamiento.

En cuanto a las evaluaciones microbiológicas de las bebidas (Cuadro 5) se encontró que los aerobios mesófilos dentro de las formulaciones III, IV y VI se mantuvieron dentro de los límites de 200 UFC·mL⁻¹ señalados por la normativa COVENIN (1981a). Los valores de

mohos y levaduras para las formulaciones I, II, III y IV se encuentran por debajo del máximo establecido por COVENIN (1981b) para el primer día de pasteurización (50 UFC·mL⁻¹ y 100 UFC·mL⁻¹, respectivamente). Los coliformes totales para todas las formulaciones se mantuvieron constantes durante el periodo de estudio.

Cuadro 5. Evolución microbiológica durante tres semanas de las diferentes formulaciones de bebidas cítricas acondicionadas con pulpa de tuna y remolacha

Formulación	Semana	Aerobios* mesófilos	Mohos*	Levaduras*	Coliformes**
I	0	304	<50	<100	<3
	1	550	>50	>100	<3
	2	560	>50	>100	<3
	3	800	>50	>100	<3
II	0	252	385	640	800
	1	<50	>50	>50	>50
	2	<100	>100	>100	>100
	3	<3	<3	<3	<3
III	0	200	<50	<100	<3
	1	3660	>50	>100	<3
	2	8000	>50	>100	<3
	3	9000	>50	>100	<3
IV	0	71	<50	<100	<3
	1	775	>50	>100	<3
	2	1100	>50	>100	<3
	3	1650	>50	>100	<3
V	0	594	>50	>100	<3
	1	3400	>50	>100	<3
	2	4500	>50	>100	<3
	3	4900	>50	>100	<3
VI	0	18	>50	>100	<3
	1	550	>50	>100	<3
	2	810	>50	>100	<3
	3	1125	>50	>100	<3

* Expresado como UFC·mL⁻¹ de jugo; ** Expresado como NMP·mL⁻¹ de jugo

El Cuadro 6 indica los resultados de la evaluación de los parámetros sensoriales, aplicando el método no paramétrico de Friedman y el valor de probabilidad (P) utilizando la aproximación de Chi² para los diferentes atributos evaluados. En relación a la evaluación sensorial, para el primer día de evaluación se determinaron diferencias significativas en todos los atributos,

indicando que las pruebas fueron instrumento de juicio para evaluar la preferencia de los consumidores. En la primera semana se detectaron diferencias significativas sólo para el sabor. Para las semanas 2 y 3 se lograron evidenciar diferencias significativas en los atributos sabor y color. De acuerdo con los puntajes obtenidos en la categorización del análisis de la

evaluación sensorial se infiere que la formulación III resultó con la mayor aceptación en cuanto al color y la formulación II en cuanto al sabor, mientras que en la variable olor no hubo discriminación. Estos resultados indican una preferencia marcada de los panelistas por dos

de las bebidas pigmentadas con pulpas contentivas de betalainas, independientemente de la fuente. Por otro lado, la presencia del ácido ascórbico en la formulación II fue una variable discriminativa en la selección de los panelistas en relación al sabor.

Cuadro 6. Evaluación sensorial durante tres semanas para detectar diferencias entre las formulaciones de bebidas cítricas acondicionadas con pulpa de tuna y remolacha (Prueba de Friedman)

Semana	0		1		2		3	
	F	P>F	F	P>F	F	P>F	F	P>F
Color	38,8760	0,0000 *	6,8648	0,2309	32,9190	0,0000 *	13,7410	0,0173 *
Aroma	13,6080	0,0183 *	3,9704	0,5537	0,2505	0,0095	3,6395	0,6024
Sabor	29,5660	0,0000 *	16,3750	0,0026 *	14,4350	0,0131 *	13,2740	0,0209 *

F: Estadístico de Friedman

P: Valor de probabilidad utilizando la aproximación de Chi²

* Significativo al 95% de confianza

Con relación a la cinética de degradación de las betalainas, en las Figuras 1 y 2 se presentan las variaciones de la concentración del pigmento en función del tiempo de almacenamiento para las bebidas acondicionadas con tuna (formulaciones I y II) y remolacha (formulaciones III y IV). De acuerdo al valor del coeficiente de determinación R² para cada caso se estableció que en todas las formulaciones el descenso en la concentración de las betalainas totales siguió un modelo de reacción de orden cero.

Las constantes cinéticas (k) no mostraron diferencias significativas (P>0,05) para las bebidas pigmentadas con tuna (Cuadro 7), por lo que las rectas representativas de la variación en los contenidos de betalainas totales de las formulaciones I y II resultaron paralelas y la velocidad de degradación en estas bebidas puede considerarse similar; en cambio, los valores de vida media presentaron diferencias significativas (P≤0,05), mostrando el mayor tiempo la formulación II. Sin embargo, en reacciones de orden cero la vida media es directamente proporcional a la concentración inicial del reactante, por lo tanto, la diferencia observada en este parámetro puede ser una consecuencia de las diferencias presentadas por los productos en la concentración inicial de betalainas totales, donde la formulación II (contentiva de ácido ascórbico) mostró el mayor valor (0,93 mg·100 mL⁻¹ de jugo) en comparación con la formulación I (0,86 mg·100 mL⁻¹ de jugo). En tal sentido, los resultados exhibidos por las bebidas pigmentadas

con tuna permiten inferir que la degradación de las betalainas en estos productos no es afectada por la adición de ácido ascórbico.

Las bebidas pigmentadas con remolacha (formulaciones III y IV) mostraron diferencias significativas (P≤0,05) en los valores de k y por lo tanto la gran diferencia observada en los valores de vida media para este caso (Cuadro 7) debió estar más influenciada por la constante cinética que por la diferencia existente en la concentración inicial de betalainas. La formulación III presentó la constante de velocidad más alta (0,0181 mg·100 mL⁻¹·d⁻¹), lo que evidencia que en ella la degradación de las betalainas fue más rápida y por lo tanto su vida media fue inferior a la mostrada por la formulación IV, la cual contenía ácido ascórbico; estos resultados permiten inferir que en las bebidas con remolacha la adición de ácido ascórbico si actuó como un agente protector de las betalainas.

El comportamiento cinético establecido para las betalainas en las bebidas cítricas pigmentadas con tuna y con remolacha (orden cero) difiere al señalado para estos pigmentos en diversos sistemas alimentarios por otros autores, quienes han establecido que la degradación de las betalainas es una reacción de primer orden (Delgado-Vargas et al., 2000; Moreno-Álvarez et al., 2002a) lo cual podría estar influenciado por la composición química de las especies empleadas, las cuales son de naturaleza distinta y pueden contener diferentes sustancias químicas. A este respecto, Delgado-Vargas et al. (2000) hacen

referencia a investigaciones que establecen que la cinética de degradación de algunos pigmentos puede ser afectada por la presencia de especies moleculares y otros agentes como la actividad del agua y el pH. La diferencia en la naturaleza de la tuna y la remolacha como factor influyente en la degradación de las betalaínas se evidencia en el hecho de que en las bebidas pigmentadas con tuna se degradaron con una velocidad de reacción, establecida a través del valor de k , menor en

comparación con los productos que contenían remolacha y, además, en la remolacha el ácido ascórbico mostró una acción protectora mientras que en las bebidas con tuna no modificó la cinética.

Los análisis físico-químicos y microbiológicos determinados a las seis formulaciones, indican que la vida útil de todos los productos fue de tres semanas bajo las condiciones de refrigeración establecidas en esta investigación.

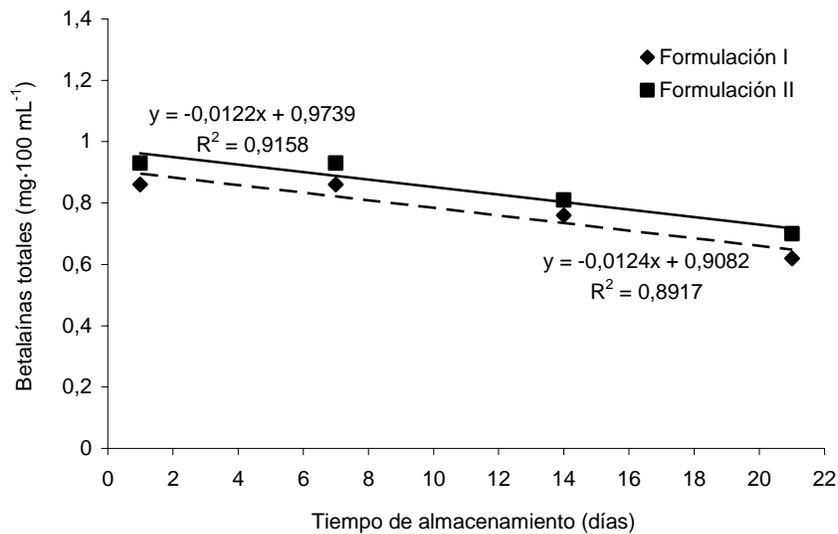


Figura 1. Degradación de betalaínas en dos formulaciones de bebidas cítricas pigmentadas con tuna

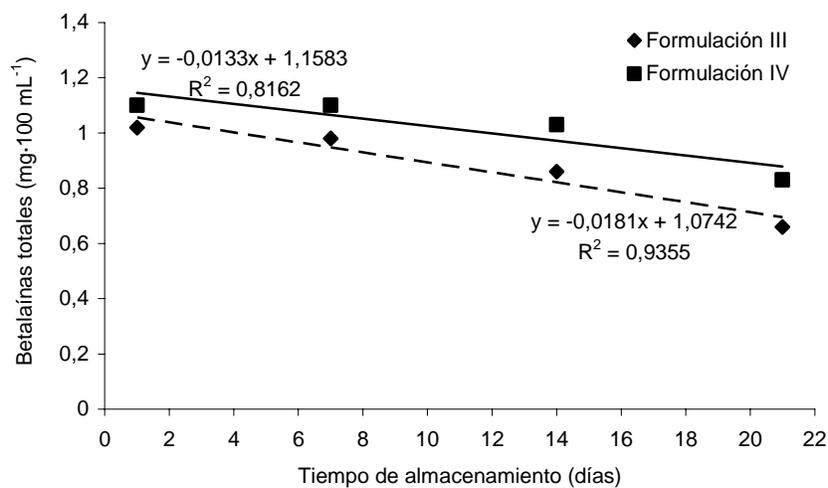


Figura 2. Degradación de betalaínas en dos formulaciones de bebidas cítricas pigmentadas con remolacha

Cuadro 7. Parámetros cinéticos de la degradación de bebidas cítricas pigmentadas con tuna (formulaciones I y II) y remolacha (formulaciones III y IV)

Formulación	Constantes de velocidad (k mg·100 mL ⁻¹ ·d ⁻¹)	Vida media (d)
I	0,0124 a	34,7
II	0,0122 a	38,1
III	0,0181 c	28,2
IV	0,0133 b	41,4

Letras diferentes en los superíndices en una misma columna indican diferencias significativas (t de Student, P≤ 0,05)

CONCLUSIONES

Existe la factibilidad tecnológica para la elaboración de bebidas cítricas pigmentadas utilizando fuentes naturales como la tuna y la remolacha. Los parámetros físico-químicos evaluados presentaron variaciones significativas durante el tiempo de estudio; sin embargo, la degradación de los pigmentos no fue total y por el contrario la coloración persistió a lo largo de las evaluaciones. Desde el punto de vista sensorial hubo una mayor preferencia por parte de los panelistas por las bebidas pigmentadas independientemente de la fuente. Por otra parte, se logró utilizar a la tuna, una especie vegetal sin utilidad comercial, marcada con un alto contenido de pigmentos que puede ser utilizada para la sustitución de los colorantes sintéticos. Las bebidas pigmentadas con las dos fuentes de betalaínas presentaron un tiempo de vida útil de 21 días corroborando que el tratamiento de pasteurización fue efectivo. Se concluye que las betalaínas presentes en las bebidas mostraron estabilidad química durante el tiempo de estudio.

AGRADECIMIENTO

Investigación financiada por el proyecto S1-05-013 de la UNESR y cofinanciado por el programa PEM-2001002271 del FONACIT-UNESR. El Proyecto de Reactivación del Núcleo Canoabo, dirigido por Jorge Pérez y Rodolfo Gil, invirtió recursos en la reparación de equipos necesarios en la ejecución de esta investigación. Se agradece el apoyo prestado por Emil Calles y José Miguel Cruces en las gestiones para la consolidación de las líneas de investigación del Laboratorio de Biomoléculas.

LITERATURA CITADA

1. AOAC. 1990. Official Methods of Analysis of

the Association of Official Analytical Chemist. 15th ed. Washington, DC. 1298 p.

2. Barrera, F., C. Reynoso y E. Mejía. 1998. Estabilidad de betalaínas extraídas del garmbullo (*Myrtillocactus geometrizans*). Food. Sci. Techn. Int. 4: 115-120.
3. Butera, D., L. Tesoeire, F. Di Gaudio, A. Bongiorno, M. Allegra, A. Pintaudi, R. Kohen y M. Livera. 2002. Antioxidant activities of sicilian pear (*Opuntia ficus indica*) fruit extracts and reducing properties of betalains: betanin and indicaxanthin. J. Agric. Food Chem. 50: 6895-6901.
4. Cantillo, B., T. Fernández y M. Núñez. 1994. Durabilidad de los alimentos. Métodos de estimación. La Habana: Instituto de Investigación para la Industria Alimentaria.
5. CIEPE (Centro de Investigación del Estado para la Producción Experimental Agroindustrial). 1984. Evaluación sensorial de los alimentos. Serie Manuales N° 2. San Felipe, estado Yaracuy, Venezuela. 101 p.
6. COVENIN (Comisión Venezolana de Normas Industriales). 1977. Determinación de vitamina C. Norma 1295. Caracas. 17 p.
7. COVENIN (Comisión Venezolana de Normas Industriales). 1978a. Método para el recuento de microorganismos aeróbicos en placa de petri. Norma 902. Caracas. 5 p.
8. COVENIN (Comisión Venezolana de Normas Industriales). 1978b. Método para el recuento de hongos y levaduras. Norma 1337. Caracas. 6 p.
9. COVENIN (Comisión Venezolana de Normas

- Industriales). 1981a. Jugos de naranja pasteurizados requisitos. Norma 1699. Caracas. 6 p.
10. COVENIN (Comisión Venezolana de Normas Industriales). 1981b. Bebida a base de naranja. Norma 1702. Caracas. 6 p.
11. COVENIN (Comisión Venezolana de Normas Industriales). 1984. Determinación del número más probable de coliformes, coliformes fecales y *Escherichia coli*. Norma 1104. Caracas. 21 p.
12. COVENIN (Comisión Venezolana de Normas Industriales). 1995. Jugos y Néctares. Norma 1030. Caracas. 6 p.
13. Delgado-Vargas, F., R. Jiménez y O. Paredes-López. 2000. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains. Characteristics, biosynthesis processing and stability. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 40(3): 173-289.
14. Domínguez-López, A. 1996. Empleo de frutos y de los cladodios de la chumbera (*Opuntia* spp.) en la alimentación humana. *Food. Sci. Techn. Int.* 1: 65-74.
15. Frazier, W.C y D.C. Westhoff. 2003. *Microbiología de los Alimentos*. Editorial Acribia. Zaragoza.
16. INN (Instituto Nacional de Nutrición). 2001. Tabla de composición de alimentos para uso práctico. Publicación Nº 404. Serie Cuadernos Azules. Caracas. 97 p.
17. Joubert, E. 1993. Processing of the fruit of five prickly pear cultivars grown in South Africa. *Int. J. Food Sci. Technol.* 28(4): 377-387.
18. Kanner, J., S. Harel y R. Granit. 2001. Betalains: A new class of dietary cationized antioxidants. *J. Agric Food Chem.* 49: 5178-5185.
19. Moreno-Álvarez, M.J., C. Gómez, J. Mendoza y D. Belén. 1999. Carotenoides totales en cáscara de naranja (*Citrus sinensis* L. variedad Valencia). *Rev. Unellez Ciencia Tecnol.* 17: 92-99.
20. Moreno-Álvarez, M.J., A. Vilorio-Matos y D. Belén. 2002a. Degradación de betalainas en remolacha (*Beta vulgaris* L.) estudio cinético. *Rev. Cient. FCV-LUZ* 12(2): 133-136.
21. Moreno-Álvarez, M.J., G. Gutiérrez., A. Graterol y D.R. Belén. 2002b. Evaluación de un licor dulce acondicionado con cáscaras de mandarina. *Rev. Cient. FCV-LUZ* 12(4): 271-277.
22. Moreno-Álvarez, M.J., C. Medina., L. Antón, D. García y D. Belén. 2003. Uso de pulpa de tuna (*Opuntia boldinguii* Br. et R.) en la elaboración de bebidas cítricas pigmentadas. *Interciencia* 28(9): 539-543.
23. Moreno-Álvarez, M.J., G. Rodríguez, H. Aponte y D.R. Belén. 2004a. Cambios físico-químicos en dos aguardientes dulces aromatizados con cáscaras de mandarinas y naranjas. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 21: 290-301.
24. Moreno-Álvarez, M.J., A. Machado, A. Padrón, D. García y D.R. Belén. 2004b. Evaluación microbiológica y físico-química de bebidas pasteurizadas fortificadas con extractos de desechos desodorizados de naranja. *Arch. Lat. Nutr.* 54(3): 308-313.
25. Odoux, E. y A. Domínguez-López. 1996. Le figuier de Barbarie: une source industrielle de bétalaines. *Fruits* 56(1): 61-78.
26. Sáenz, C. 1997. Usi potenziali del frutto e dei cladodi di ficondidia nell' industria alimentare. *Rev. Frutticult.* 12: 47-52.
27. Sáenz, C., M. Estévez, E. Sepúlveda y P. Mecklenburg. 1998. Cactus pear fruit: A new source for natural sweetener. *Plant Food Human Nutrition* 52: 141-149.
28. Sapers, G.M y J.S. Hornstein. 1979. Varietals differences in colorant stability of red beet pigments. *J. Food Sci.* 44: 1245-1248.
29. Sepúlveda, E., C. Sáenz y M. Álvarez.

2000. Physical, chemical and sensory characteristics of dried fruit sheets of cactus pear (*Opuntia ficus indica* (L.) Mill.) and quince (*Cydonia oblonga* Mill.). Ital. J. Food Sci. 12: 47-54.

30. Vélez, F. y G. D Vélez. 1990. Plantas Alimenticias de Venezuela. Autóctonas e introducidas. Fundación Bigott. Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales de la Salle. Caracas. 277 p.