

Evaluación de las propiedades funcionales y la capacidad antioxidante de harina de remolacha (*Beta vulgaris*)

Evaluation of the functional properties and antioxidant capacity of beet flour (*Beta vulgaris*)

R. Masciarelli^{1,2}, H. Lucero^{1,2}, S. A. Silvester^{1,2}, J. Luisetti^{1,2}
1. Centro de Investigación y Desarrollo en Tecnología de Alimentos (CIDTA).
2. Facultad Regional Rosario-UTN.
hectorlucero@hotmail.com

Resumen

Se estudió la influencia de las temperaturas de secado (40, 70 y 100 °C) y de diferentes mezclas extractoras etanol/agua, en los parámetros de calidad de la remolacha (*Beta vulgaris*). Se evaluó la relación de rehidratación (RR), de la capacidad de retención de agua (CRA) y del índice de pardeamiento no enzimático (IPNE). La capacidad antioxidante de los extractos, se determinó a partir del contenido de flavonoides totales (CFT), del porcentaje del radical libre DPPH residual (%DPPH* residual) y de la presencia de los pigmentos betaxantina y la betacianina. Los mayores valores de RR e IPNE se obtuvieron para 100°C y el de CRA para 40°C. Los menores %DPPH* residual, correspondieron a la mezcla hidroalcohólica 50:50, en las muestras secadas a 40°C. Para dicha mezcla se obtuvo el mayor CFT, para todas las temperaturas de secado. En la mezcla 50:50, se detectaron los pigmentos betaxantina y betacianina, para las temperaturas de 40 y 70°C. Se concluye que la mayor extracción de flavonoides se produjo para la mezcla etanol/agua 50:50, para las tres temperaturas de secado, lo que coincide con los mayores valores de absorbancia obtenidos para la betaxantina y betacianina.

Palabras claves: temperaturas de secado, mezclas etanol-agua, parámetros de calidad, remolacha.

Abstract

The influence of drying temperatures (40, 70 and 100 °C) and of different ethanol / water extraction mixtures on the beet quality parameters (*Beta vulgaris*) was studied. The ratio of rehydration (RR), water retention capacity (CRA) and non-enzymatic browning index (IPNE) was evaluated. The antioxidant capacity of the extracts was determined from the content of total flavonoids (CFT), the percentage of the free radical DPPH residual (% DPPH * residual) and the presence of the betaxanthine and betacyanine pigments. The highest values of RR and IPNE were obtained for 100 °C and that of CRA for 40 °C. The lowest residual % DPPH *, corresponded to the 50:50 hydroalcoholic mixture, in samples dried at 40 °C. For this mixture, the highest CFT was obtained, for all drying temperatures. In the 50:50 mixture, the betaxanthine and betacyanine pigments were detected, for temperatures of 40 and 70 °C. It is concluded that the greatest extraction of flavonoids was produced for the 50:50 ethanol / water mixture, for the three drying temperatures, which coincides with the higher absorbance values obtained for betaxanthine and betacyanin.

Keywords: drying temperatures, ethanol-water mixtures, quality parameters, beet.

1. Introducción

En la actualidad, existe un interés creciente en los colorantes obtenidos de fuentes naturales. Esto es debido en parte a la necesidad de ampliar el grupo de los colorantes y en parte a la implicancia de que, al ser naturales, son más seguros. Los colorantes son importantes indicadores de la calidad, ya que determinan la aceptación de los alimentos por parte del consumidor. Últimamente, el mercado para la aplicación de colorantes sintéticos ha disminuido a favor de los colorantes naturales (Fletcher, 2006). Las frutas y verduras son buenas fuentes de colorantes naturales. Sin embargo, estos tienen la

desventaja de su costo superior y de su reducida estabilidad (Herbach, Stintzing y Carle, 2006).

Las betalaínas son los principales pigmentos presentes en la raíz de la remolacha (Delgado y col., 2000). Son derivados del ácido betalámico y responsables de su coloración roja característica. En el área de los alimentos han sido empleados principalmente como colorantes naturales. Estos colorantes son captadores de radicales libres, impidiendo la oxidación de las moléculas biológicas. Tienen efectos antivirales y antimicrobianos (Strack, Vogt y Schliemann, 2003) y también pueden inhibir la proliferación celular de las células tumorales humanas (Reddy, Ruby, Lindo y Nair, 2005). Las betalaínas están constituidas por dos grupos de

estructuras: las betacianinas, de color rojo-violeta, y las betaxantinas, de color amarillo-naranja. (Delgado-Vargas y col., 2000; Stintzing y Carle, 2004). Ambos grupos de moléculas son ópticamente activos ya que poseen dos centros quirales en C-2 y C-15. La diferencia estructural permite la medición espectrofotométrica simultánea del contenido del pigmento sin la necesidad de separación cromatográfica o electroforética.

Los alimentos de origen vegetal son generalmente procesados por métodos térmicos para extender su vida útil, mejorar el sabor y aumentar su palatabilidad. El procesamiento produce cambios significativos en las betalainas. La deshidratación es uno de los métodos más utilizados para la preservación de frutas y verduras. Su principal objetivo es la eliminación de agua hasta el nivel en el que el deterioro microbiano y las reacciones de deterioro se reducen al mínimo. Sin embargo, durante el secado las verduras sufren cambios físicos, estructurales, químicos y nutricionales que pueden afectar a los atributos de calidad como la textura, color, sabor y valor nutricional (Di Scala y Crapiste, 2008). La destrucción del sistema celular es uno de los más importantes cambios físicos y estructurales que se producen durante el secado (Crapiste 2000; Yadollahinia, Latifi y Mahdavi, 2009). El comportamiento en la rehidratación se considera como una medida del daño producido en el material durante el secado, tales como la pérdida de la integridad y la reducción de propiedades hidrófilas, que disminuyen la capacidad de rehidratación (Marques, Prado y Freire, 2009).

La extracción de pigmentos de fuentes vegetales utilizando solventes es un paso importante en la fabricación de suplementos dietarios, nutraceuticos, alimentos funcionales, productos farmacéuticos y cosméticos.

El objetivo de este trabajo fue estudiar la influencia de las temperaturas de secado en las propiedades funcionales de la remolacha y el uso de diferentes mezclas de etanol-agua en la extracción de compuestos antioxidantes de la misma.

2. Materiales y métodos

Las remolachas se lavaron con una solución acuosa de detergente neutro y enjuagaron con agua corriente tres veces. Con una proporción sólido-líquido de 1:10, fueron hervidas durante 30 min contados a partir de alcanzar el punto de ebullición. Esta operación se realizó a los efectos de reducir la carga microbiana, inactivar a las enzimas responsables del deterioro durante el procesamiento posterior y facilitar los procesos extractivos posteriores

(Delgado-Vargas y col., 2003). Se enfriaron a temperatura ambiente, se pelaron y se cortaron en cubos de $1 \pm 0,2$ cm. Se colocaron en baño de solución de cloruro de sodio al 4 % a temperatura ambiente, para fijar los pigmentos (Raupp y col., 2011). Se escurrió el líquido; a posteriori, se embolsaron en film de polietileno y se guardaron en freezer a -18 °C hasta su uso. Luego, se sometieron a tratamientos de secado mediante estufa de tiro forzado con aire a velocidad constante a las temperaturas: 40, 70 y 100°C. El proceso de secado se continuó hasta alcanzar peso constante. Las humedades finales fueron: 16,8; 15,3 y 14,3% (en base húmeda), respectivamente. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

En la Figura 1. Se muestra el diagrama de bloques del procesamiento de la remolacha.

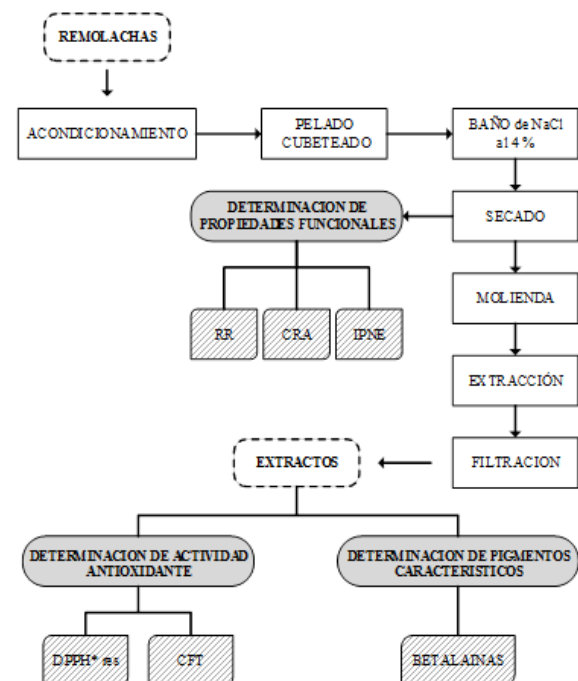


Figura 1. Diagrama de bloques del procesamiento de la remolacha

2.1. Propiedades funcionales del producto secado

2.1.1. Análisis de rehidratación

La temperatura de secado afecta la calidad final del producto rehidratado, por lo que se utilizan índices numéricos para observar este efecto. Entre estos indicadores se destacan: la relación de rehidratación (RR) y la capacidad de retención de agua (CRA).

Los trozos de material seco se colocaron en agua destilada a 40 °C durante 6 horas, empleando una relación solido-liquido de 1:50. Luego se drenaron durante 30 segundos y se pesaron. Las determinaciones se realizaron por triplicado. La RR se calculó de acuerdo a la Ecuación (1), según Vega-Gálvez y col. (2009). La CRA se determinó por centrifugación de las muestras rehidratadas anteriormente, a 3500xg durante 15 minutos a 20 °C. Se escurrió el líquido sobrenadante y se pesó el mismo. La CRA se obtuvo a partir de la Ecuación (2).

$$RR = \frac{W_{reh} * X_{reh} - W_{seca} * X_{seca}}{W_{seca} * (1 - X_{seca})} \quad (1)$$

$$CRA = \frac{W_{reh} * X_{reh} - W_l}{W_{reh} * X_{reh}} * 100 \quad (2)$$

Dónde: W_{reh} es el peso del material rehidratado; X_{reh} es la humedad del material rehidratado en base húmeda; W_{seca} es el peso del material luego del proceso de secado; X_{seca} es el contenido de humedad del material seco en base húmeda; W_l es el peso del líquido escurrido luego de la centrifugación.

2.1.2. Índice de pardeamiento no enzimático (IPNE)

Ya que las enzimas fueron inactivadas en el tratamiento térmico practicado inicialmente a las remolachas, se aplicó el método propuesto por Vega-Gálvez y col. (2009) para determinar el IPNE. El agua de la rehidratación anterior fue clarificada por centrifugación a 3200xg durante 15 minutos. El sobrenadante se diluyó con igual volumen de etanol al 95 % y se centrifugó nuevamente a 3200xg durante 15 minutos. El IPNE, es decir, la absorbancia a 420 nm de los extractos, se determinó en espectrofotómetro (Jasco 7800 UV-Vis, Japan Spectroscopic Co., Tokio, Japón). Todas las mediciones se realizaron por triplicado.

2.2. Preparación de extractos

El material seco obtenido en cada tratamiento fue molido con molino de cuchillas hasta que el material pasó por tamiz malla 40, obteniéndose harina de remolacha. 0.6 g de la misma se extrajeron por agitación con 10 mL de solvente con relaciones etanol-agua de 100:0, 80:20 y 50:50, durante 2 horas, a temperatura ambiente y al abrigo de la luz. Luego, los sólidos se separaron mediante filtración (Whatman N°40). Los extractos (filtrados para cada temperatura y cada solvente) se conservaron a 4°C

en frascos herméticos de vidrio hasta su utilización en la obtención del barrido y las determinaciones analíticas. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

2.3. Determinación de la actividad antioxidante de los extractos

El DPPH* es un reactivo analítico, en rigor un radical libre capaz de reaccionar con los flavonoides, polifenoles, las betalaina y con los radicales libres presentes o formados durante el tratamiento de secado y se denomina residual ya que del 100% incorporado, queda libre el resto, debido a la no presencia de las sustancias mencionadas (se comportan como radicales libres), las cuales ya fueron neutralizadas.

2.3.1. DPPH* residual

La capacidad antioxidante se determinó evaluando la capacidad de captura de radicales libres mediante el ensayo con DPPH* utilizando el método espectrofotométrico de Shimada y col. (1992), expresando los resultados como % de DPPH* residual. Se mezcló 1 mL de cada extracto con 5 mL de una solución metanólica y 0,1 mM de DPPH*. Luego, se midió la absorbancia a 517 nm mediante un espectrofotómetro (Jasco 7800 UV-Vis, Japan Spectroscopic Co., Tokio, Japón). El estándar catequina se utilizó como comparación. El DPPH* (%), se calculó según:

$$\% DPPH^* residual = 100 - \% DPPH^* \quad (3)$$

$$\% DPPH^* = \left(1 - \frac{A}{A_0}\right) * 100 \quad (4)$$

Dónde: A: absorbancia de la muestra y A_0 : absorbancia del blanco de reactivo.

2.3.2. Contenido de flavonoides totales de los extractos

El contenido de flavonoides totales (CFT) se evaluó mediante el método de Kim y col. (2003), con modificaciones aquí introducidas para mejorar la operatividad. A tiempo cero, a 1 mL del extracto se le adicionaron 4 mL de agua bidestilada y 0,3 mL de nitrito de sodio. A los 5 min se le agregaron 0,3 mL de cloruro de aluminio al 3%, a los 6 min, 2 mL de hidróxido de sodio (1M) e, inmediatamente, 2,4 mL de agua bidestilada. La absorbancia de la mezcla se midió a 510 nm contra un blanco de reactivo, utilizando un espectrofotómetro. Los CFT son

expresados en mg de catequina equivalente (CE) / mL de solución.

2.4. Determinación de pigmentos

Se realizaron los barridos de cada uno de los extractos en el rango de longitudes de onda comprendido entre 190 y 1100 nm, utilizando un espectrofotómetro (Shimadzu Modelo UV-1800, Japón). Para la mezcla etanol-agua 50:50, se debió realizar una dilución debido a que los valores de absorbancia obtenidos fueron mayores a 1.

2.5. Análisis estadístico de los resultados

Los datos fueron procesados mediante el software Origin Pro 8 y, para establecer las diferencias significativas de los parámetros en estudio, se empleó análisis ANOVA. El nivel de significación se estableció para un valor $p < 0,05$.

3. Resultados y Discusión

3.1. Propiedades funcionales

En la Figura 2a se muestran los valores de RR en gramos absorbidos de agua/gramos de masa seca, mientras que en la Figura 2b se muestran los valores de CRA en gramos retenidos de agua /100 gramos de agua, para los tratamientos de 40,70 y 100 °C, respectivamente. Generalmente el aumento de la temperatura, produce una disminución de los valores del parámetro de RR y CRA. Esto se debe probablemente el colapso de los tejidos y al daño celular producido por las altas temperaturas del secado, ya que los tejidos dañados, al contraerse por efecto del secado, absorben menor cantidad de agua y no pueden retenerla (Vega- Gálvez et al., 2009). En nuestro caso observamos que los valores de RR a 40 y 70 °C, disminuyen levemente y prácticamente no presentan diferencias significativas, y el mayor valor de RR se presenta a los 100 °C. A su vez, el máximo CRA se da a los 40 °C por lo tanto, las remolachas deshidratadas a esta temperatura retienen grandes cantidades de agua.

El aumento de dichos parámetros a 100 °C, puede atribuirse, probablemente, que a dicha temperatura, con respecto a la de 70 °C, se producen una mayor proporción de compuestos altamente polares (productos de la reacción de Maillard), cuyas interacciones químicas con el agua, aumentan su capacidad de retención, lo que concuerda con los mayores valores de IPNE, como se verá más adelante. Por lo tanto a 70 °C, el tejido resulta menos dañado que a 100 °C, pero obviamente más dañado que a 40 °C.

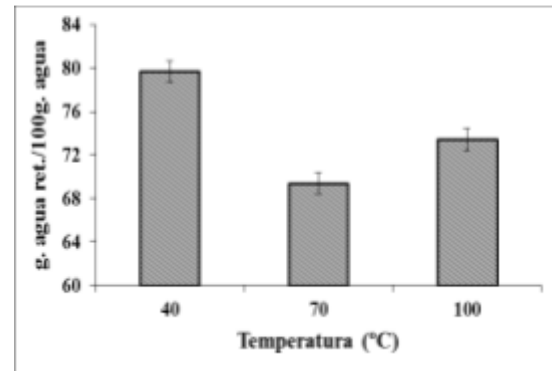
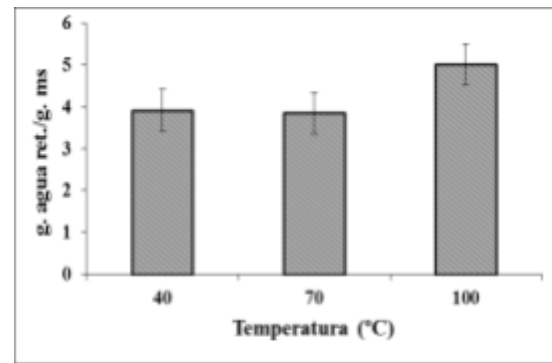


Figura 2. Efecto de la temperatura de secado en cubos de remolacha secados y rehidratados en: (a) la relación de rehidratación (RR) y (b) capacidad de retención de agua (CRA).

Los valores de IPNE se muestran en la Figura 3 para los tratamientos de 40,70 y 100 °C, respectivamente. Se observa que se produce un incremento significativo ($p < 0,05$) del IPNE, para todos los tratamientos con el aumento de la temperatura de secado. Los compuestos de Maillard, a cuya formación se atribuye el pardeamiento no enzimático, si bien tienen propiedades antioxidantes, están asociados a la reducción del valor nutricional de los alimentos.

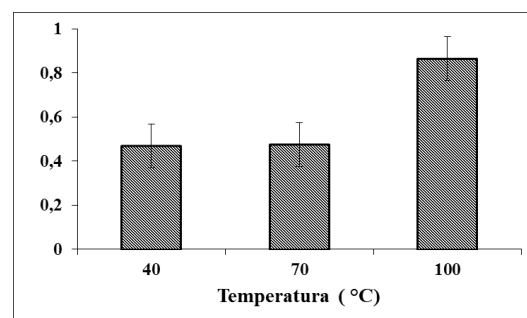


Figura 3. IPNE para tratamientos de 40,70 y 100 °C

3.2. Determinación de la capacidad antioxidante

En la Figura 4a se presentan los valores de DPPH* residual obtenidos para los diferentes extractos. Se observa que no existen diferencias significativas entre las tres temperaturas para la mezcla (100:0), de la misma manera para el solvente (80:20) para 40 y

70°C. Los extractos a 100°C presentan mayores valores de DPPH* residual para las mezclas de (80:20) y (50:50), respecto a las otras temperaturas. Para la mezcla (50:50) a 40°C es prácticamente imperceptible el porcentaje de DPPH* residual. A los efectos comparativos, en estudios sobre pulpa de remolacha, realizando extracciones a 40°C bajo vacío con soluciones acuosas de etanol al 50%, 80% y 100%, Sakac y col. (2004) encontraron valores de DPPH* residual de 75,92; 81,05 y 84,94 %, para 160 mg de ms /mL, en tanto los valores obtenidos a dicha temperatura para 60 mg de materia seca (ms)/mL en este trabajo resultaron 0,26; 33 y 52 %. El DPPH* es un radical libre capaz de reaccionar con los flavonoides, las betalainas y con los radicales libres presentes o formados durante el tratamiento de secado. El método utilizado está basado en medir la captura del radical por parte de los extractos con capacidad antioxidante. A medida que aumenta el contenido de compuestos antioxidantes el DPPH* residual disminuye.

En la Figura 4b, se muestran los resultados obtenidos del contenido de flavonoides totales en función del solvente utilizado, para las diferentes temperaturas de secado. La mayor extracción de flavonoides se produjo para el solvente de concentración etanol- agua 50:50 y a la temperatura de secado de 70 °C. Asimismo, se puede observar que, al utilizar un solvente con mayor cantidad de agua, el contenido de flavonoides extraídos se incrementa. Con respecto a la temperatura, tanto en la remolacha secada a 40°C como a 100°C se obtuvo una menor cantidad de flavonoides respecto a la muestra de 70°C, siendo mínima con la de 100°C. Utilizando como solvente etanol puro, prácticamente no se observan diferencias significativas para las tres temperaturas de secado. A los efectos comparativos, a los efectos comparativos, Ciappini y col. (2013) obtuvieron valores de CFT para mieles de trébol, eucalipto y alfalfa comprendidos entre 0.0072 y 0.0037 mg de CE/mL. Dichos autores realizaron extracciones acuosas utilizando una relación de solido/liquido de 100 mg/mL. Mientras que en el presente trabajo utilizamos una relación de 60 mg/mL y se obtuvieron los siguientes valores máximos: 0.122, 0.1543 y 0.072 mg de CE/mL para 40,70 y 100 °C, respectivamente, empleando una solución hidroalcohólica 50:50.

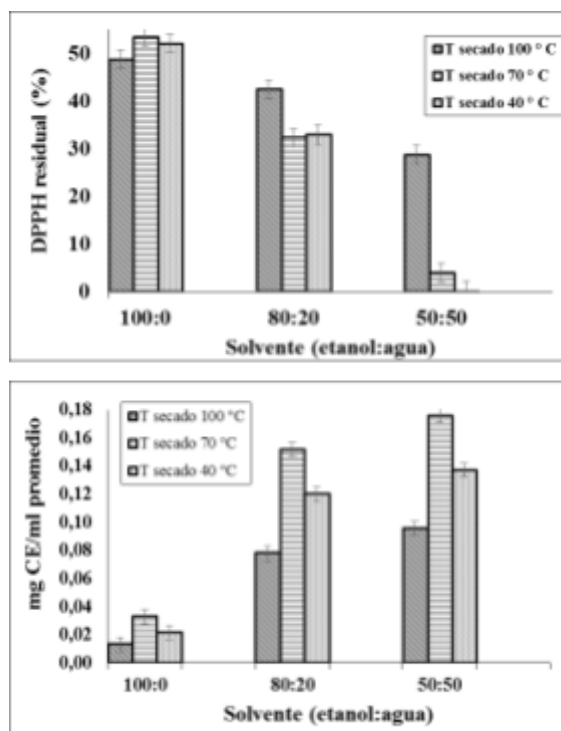


Figura 4. Determinación de: (a) DPPH* residual y (b) Contenido de flavonoides totales

3.3. Barrido espectrofotométrico

En las Figuras 5a, 5b y 5c, se presentan los barridos obtenidos con las diferentes muestras de remolacha. Todas las muestras presentan un pico predominante alrededor de $\lambda=280$ nm, el cual se puede asociar a la presencia de proteínas, según Franco Zabaleta (2004). Se puede observar que al utilizar el solvente que contiene etanol puro, no se evidencia ningún otro pico. Por el contrario, con las demás mezclas de solventes, se obtuvieron picos que se asocian a la presencia de betalainas. Las betaxantinas se identifican a $\lambda=480$ nm y las betacianinas a $\lambda=538$ nm, correspondiéndose a los picos observados.

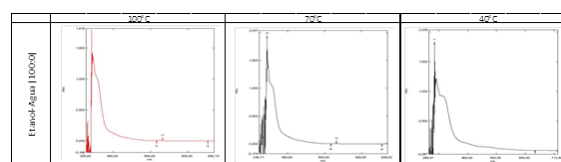


Figura 5 (a). Barridos extracto de remolacha etanol: agua (100:0)

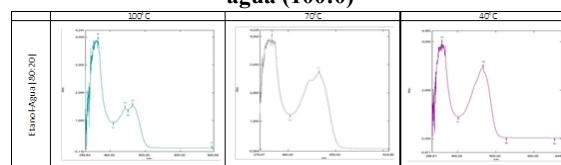


Figura 5 (b). Barridos extracto de remolacha etanol: agua (80:20)

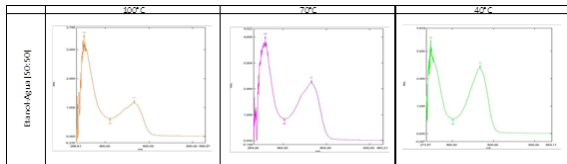


Figura 5 (c). Barridos extracto de remolacha etanol: agua (50:50)

A menor temperatura de secado la presencia de betalainas es mayor según puede observarse en las Figuras 5b y 5c. Asimismo, con una relación de solvente al 50:50, se obtiene el mayor contenido de pigmentos.

4. Conclusiones

Con referencia a los parámetros de calidad, se produce un incremento del IPNE para todos los tratamientos con el aumento de temperatura de secado. Ello coincide con la evaluación del DPPH* residual, que nos señala la formación de compuestos de Maillard con manifiesta capacidad antioxidante en particular a 100°C. Con respecto a los otros tratamientos, los menores valores del IPNE y los valores análogos del DPPH* residual, se atribuyen a la escasa formación de los compuestos de Maillard, prevaleciendo aquellos compuestos antioxidantes naturalmente presentes en la remolacha.

La mayor extracción de flavonoides se produjo para el solvente de concentración etanol-agua al 50:50 para las tres temperaturas de secado, que coincide con los mayores valores de absorbancia obtenidos de las betalainas. Se considera que esto se debe a la alta capacidad polar tanto de los pigmentos como de los solventes. El menor porcentaje de DPPH* residual para el solvente de concentración etanol-agua al 50:50 a 40°C está de acuerdo con una alta presencia de antioxidantes naturales como son los flavonoides y las betalainas.

Debido a que se realizaron extracciones etanólicas, en trabajos futuros se propone obtener extractos concentrados de remolacha en estado viscoso mediante evaporación bajo vacío, destacándose que no se emplearán solventes tóxicos en ningún punto del procesamiento. Luego, estos concentrados de remolacha podrían emplearse como prebióticos para reforzar la capacidad antioxidante de distintos alimentos.

5. Referencias

Ciappini, M.C. Sttopani, S.F.Martinet, R. Alvarez M.B. (2013). Antioxidant activity and content of phenolic and flavonoids compounds in clovers, eucalyptus and lucerna honeys. *Revista Ciencia y Tecnología*, 15, n° 19, 45-51.

Crapiste, G. H. (2000). Simulation of drying rates and quality changes during dehydration of foodstuffs. In J. E. Lozano, M. C. Añón, E. Parada Arias, & G. V.

Delgado-Vargas, F., Jiménez, A. R., & Paredes-López, O. (2000). Natural pigments: Carotenoids, anthocyanins, and betalains — characteristics, biosynthesis, processing, and stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40, 173–289.

Delgado-Vargas, F., Jimenez, A. R. and Paredes-López, O. (2003). Natural pigments: carotenoids, anthocyanins and betalains, characteristics, biosynthesis, processing and stability. *Critical Reviews in food Science and Nutrition*, 40: 173-289.

Di Scala, K. C., & Crapiste, G. H. (2008). Drying kinetics and quality changes during drying of red pepper. *LWT: Food Science and Technology*, 41(5), 789–795.

Fletcher, A. (2006). Lycopene colorant achieves regulatory approval. foodnavigator.com/news.

Franco Zavaleta, M. E. (2004). Caracterización parcial del pigmento rojo del fruto de la jiotilla (*Escontriachiotilla*), una cactácea subexplotada. México: Universidad Autónoma Metropolitana.

Herbach, K. M., Stintzing, F. C., & Carle, R. (2006). Betalain stability and degradation-Structural and chromatic aspects. *Journal of Food Science*, 71, R41–R50.

Kim, D., Jeoung, S., Lee, C. (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, 81, 321-326.

Ruth, D.W.; Chany, P.S. (1999). *Relationship of Diffuse to Total Radiation in Canada*, *Solar Energy* 18 (1), 153-156.

Smith, J.P. (1990). *Handbook of Non Conventional Energy*, 2ª ed., 2358. Brooks Publishers, Londres, Inglaterra

Soares, M.E. y otros tres autores, (1983). *Process Calculations Using Equation of State In Chem. Thermodynamics* by N. Newman, pp 257-267. Ann Arbor Sci. Publishers, Michigan. USA.

Kong, S.Y.; Kugai, R.J. (2003). *Binary Diffusion Coefficients for Fatty Acids in Supercritical CO₂*, 6th European Congress on Supercritical Fluids, 132-138, Tours, Francia Sept. 46.

Alarcón, R. (2003). *Determinación de Difusividades de Gases a Alta Presión en Sólidos Porosos*, Tesis de Grado, Dpto. Ing. Mecánica, Universidad de La Serena, La Serena, Chile.