

Extracción y cuantificación de betalaínas en cuatro variedades de pitahaya (*Hylocereus* spp.) para colorante alimentario

Extraction and quantification of betalains in four varieties of dragon fruit for food coloring

Hernández-Carrillo, Alma Lizeth¹
Recinos-Guerrero, Karen Elizabeth²

Resumen

La investigación tuvo como objetivo principal desarrollar un procedimiento de extracción de pigmentos naturales, específicamente betalaínas, a partir de cuatro variedades de pitahaya (orejona, cebrá, lisa y rosa). Se emplearon técnicas cromatográficas y espectrofotométricas para su caracterización y cuantificación, con el propósito de obtener colorantes utilizables en diversos productos alimenticios.

El proceso de extracción de los pigmentos se llevó a cabo mediante una serie de etapas. Inicialmente, se realizó una filtración utilizando un tamiz tipo manta, seguido de un proceso de sonicación durante 30 minutos a una temperatura inferior a los 30 °C. Posteriormente, se agitó la mezcla durante una hora y se realizó una última filtración utilizando nuevamente el tamiz tipo manta. Los extractos obtenidos se sometieron a ultracongelación y posteriormente se liofilizó para obtener el producto final en forma de polvo.

La cuantificación de las betalaínas se realizó mediante espectrofotometría UV-VIS como un método aproximado. Los resultados obtenidos para la cuantificación de betacianinas fueron los siguientes: orejona (0.05 mg/g), cebrá (2.92 mg/g), lisa (3.88 mg/g) y rosa (6.02 mg/g), siendo la variedad rosa la que presentó un contenido más elevado de betacianinas.

Además de la cuantificación, se realizaron análisis complementarios de caracterización utilizando técnicas como cromatografía de capa fina, HPLC (Cromatografía líquida de alta eficiencia), espectrofotometría UV-VIS y FTIR (Espectrofotometría infrarroja con transformada de Fourier).

Adicionalmente, se llevaron a cabo análisis de colorimetría en yogur y helado elaborados con el colorante de pitahaya obtenido. Asimismo, se realizó un análisis sensorial para evaluar la aceptación del colorante aplicado en alimentos.

Palabras clave:

pitahaya, cuantificación de betalaínas, colorante alimentario, espectrofotometría UV-VIS.

Abstract

The main objective of this research study was to develop a procedure for extracting natural colorants, specifically betalains, from four varieties of dragon fruit (orejona, cebrá, lisa, and rosa). Chromatographic and spectrophotometric techniques were employed for their characterization and quantification, aiming to obtain pigments suitable for various food products.

The extraction process of the colorants involved several steps. Initially, an initial filtration was performed using a blanket-type sieve, followed by sonication for 30 minutes at a temperature below 30°C. Subsequently, the mixture was agitated for an hour, and a final filtration was conducted using the same blanket-type sieve. The obtained extracts underwent ultrafreezing and subsequent lyophilization to obtain the final product in powder form.

Quantification of the betalains was carried out using UV-VIS spectrophotometry as an approximate method. The results for betacyanin quantification were as follows: orejona (0.05 mg/g), cebrá (2.92 mg/g), lisa (3.88 mg/g), and rosa (6.02 mg/g), with rosa variety showing the highest content of betacyanins.

In addition to quantification, complementary characterization analyses were performed using techniques such as thin-layer chromatography, HPLC (High Performance Liquid Chromatography), UV-VIS spectrophotometry, and FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy).

Furthermore, colorimetry analyses were conducted on yogurt and ice cream prepared with the obtained dragon fruit colorant. A sensory analysis was also carried out to evaluate the acceptance of the colorant in food applications.

Keywords:

dragon fruit, betalain quantification, colorant, food colorant, UV-VIS spectrophotometry.

¹ Ingeniera en Alimentos, Facultad de Agricultura e Investigación Agrícola. Universidad Dr. José Matías Delgado. E-mail: alma.24carrillo@gmail.com

² Ingeniera en Alimentos, Facultad de Agricultura e Investigación Agrícola. Universidad Dr. José Matías Delgado. E-mail karenrecinos@gmail.com

1. Introducción

La pitahaya (*Hylocereus* spp.) es una fruta exótica que no es muy reconocida en El Salvador, esta contiene muchos elementos importantes que son beneficiosos para el cuerpo humano, como la tiamina, el ácido ascórbico, fibra, hierro, fósforo y calcio (Cervantes-Sánchez y otros, 2017).

Según Verona-Ruiz, Urcia-Cerna y Paucar-Menacho (2020), a nivel mundial la pitahaya es conocida por su apariencia y contenido de nutrientes. Asimismo, remarcan que existen diferentes variedades: las pitahayas amarillas de cáscara amarilla y pulpa blanca, las rojas que tiene cáscara roja y pulpa blanca, y la roja de cáscara roja con pulpa roja-púrpura.

La pitahaya ha sido objeto de estudios enfocados en la obtención de su colorante para analizar su potencial uso en diversas industrias como la industria alimentaria. Algunas de estas investigaciones se enfocan en los pigmentos que pueden encontrarse en las pitahayas, como la investigación realizada por González-Ortiz y Guerrero-Beltrán en 2018, titulada “Betaínas: importancia, presencia en vegetales y sus aplicaciones en la industria alimentaria”.

El Ministerio de Agricultura y Ganadería de El Salvador (MAG, 2021), dio a conocer que en la Escuela Nacional de Agricultura “Roberto Quiñónez” (ENA) se encuentran 25 especies de esta fruta, de las cuales cuentan con cuatro variedades totalmente desarrolladas: orejona, cebrá, lisa y

rosa. Dichas variedades son comercializadas en las instalaciones de la Escuela. Además, se han realizado diferentes productos derivados de ellas, como, por ejemplo: helados, jaleas, salsas picantes, refrescos, mermeladas, dulces, postres, entre otros.

Una de las características más sobresalientes de las variedades mencionadas es el color. Dicho color se debe a la presencia de pigmentos conocidos como betalaínas, los cuales se desglosan en betacianinas y betaxantinas (González-Ortiz y Guerrero-Beltrán, 2018).

Uno de los objetivos esenciales de esta investigación fue cuantificar las betalaínas extraídas de la pulpa de pitahaya, utilizando la técnica de espectrometría UV-VIS. Dicha técnica permitió obtener datos aproximados del contenido de betalaínas (betacianinas) de cada variedad, utilizando una longitud de onda de 536 nm. Los resultados para la cuantificación de betacianinas fueron los siguientes: orejona (3.32 mg/g), cebrá (2.92 mg/g), lisa (3.88 mg/g) y rosa (6.02 mg/g), siendo la variedad rosa que presentó un mayor contenido de betacianinas.

Adicionalmente, se realizaron análisis cualitativos para identificar si la fruta contiene betalaínas dentro de su composición, utilizando diversas técnicas; entre ellas, la cromatografía de capa fina, donde se observó la presencia de betacianinas en la pulpa de la pitahaya; mientras que en el colorante de fruta entera se observaron betacianinas y betaxantinas. La técnica de HPLC se aplicó para separar y purificar los compuestos del colorante. La espectrofotometría FTIR permitió la identificación de

los enlaces del grupo funcional nitrógeno doblemente enlazado, el cual es característico de las betalainas.

El colorante se obtuvo en presentación en polvo, para su posterior reconstitución y uso en alimentos, no obstante, si se desea comercializar el producto, es imperativo llevar a cabo análisis exhaustivos, abordando aspectos como el pH, la estabilidad frente a la luz y al calor. Estas evaluaciones se orientarán a confirmar que, a una escala más amplia, no presentan efectos perjudiciales o compromisos en su integridad y calidad. El colorante fue aplicado en dos helados de crema y un yogur. Estos productos fueron sometidos a análisis de colorimetría y análisis sensorial.

2. Materiales y métodos

2.1 Adquisición de variedades de pitahaya

Las cuatro variedades de pitahaya (orejona, cebrá, lisa y rosa) con las que se llevaron a cabo los extractos, fueron proporcionadas por la Escuela Nacional de Agricultura “Roberto Quiñónes” (ENA) de su campo de cultivo experimental.

2.1 Extracción de colorante

El proceso de extracción se llevó a cabo bajo iguales condiciones para cada una de las variedades, en relación 1:1 (v/v) con respecto al volumen del extracto de la pulpa y del solvente (agua). Para esta relación se emplearon 200 ml de extracto de pulpa de orejona, 200 ml de cebrá, 123 ml de lisa y 245 ml de rosa.

Cada fruta fue lavada y secada, se separó la pulpa de la cáscara. La pulpa con las semillas se filtró mediante un tamiz tipo manta (300 mesh) y el filtrado se diluyó con agua destilada. La mezcla se expuso a baño de ultrasonidos (BRANSON, 5800) durante 30 minutos con control de temperatura aproximadamente a 30 °C, pasado el tiempo se colocó en la plancha con agitador magnético (CORNING, PC-420D) durante 1 hora, después se filtró nuevamente por el tamiz tipo manta.

2.3 Determinación de pH

Se colocaron 15 ml de cada extracto en un beaker y se realizó la medición de pH con un pH-metro marca SI Analytics modelo TitroLine 5000.

2.4 Estabilidad de pH

En 3 matraces de Erlenmeyer de 25 ml se añadieron 15 ml de soluciones con valores de pH 4, pH 7 y pH 10, posteriormente se colocaron 4 gotas del extracto en cada Erlenmeyer, dando así colores diferentes debido a su concentración de iones hidrógeno.

2.5 Determinación de grados Brix

Se cuantificaron los sólidos solubles disueltos mediante la medición de grados Brix, agregando 2 ml de la solución de cada muestra en un Refractómetro marca Pocket Refractometer Pal-1 modelo ATAGO, esto se repitió con cada variedad.

2.6 Determinación de humedad y sólidos totales

Se tomaron muestras por triplicado de cada una de las variedades, las cuales se sometieron a ultracongelación (VWR, MFV-

14) para luego ser liofilizadas (LABCONCO, FreeZone 2.5).

2.7 Cromatografía de capa fina

Esta técnica se utiliza para identificar visiblemente la cantidad de pigmentos presentes en la muestra. La técnica consistió en colocar una gota de las muestras en el extremo inferior de la placa de sílica (TLC Sílica gel 60 F254) y, posteriormente se sumergió cuidadosamente el extremo inferior de placa del lado donde se colocó la muestra, en el agua destilada.

2.8 Cromatografía por columna

Se colocaron 20 gramos de sílica gel (Fisher Chemical, 230-400 Mesh, Grade 60) en una columna cromatográfica de vidrio, agregando 1 ml del extracto y haciendo pasar aproximadamente 200 ml de agua destilada a través de la columna.

2.9 Centrifugación del extracto del colorante

Para separar las partículas suspendidas de sílica gel restante del procedimiento cromatográfico de columna, se vertieron 14 ml de la solución del colorante en tubos cónicos plásticos de 14 ml, colocándolos en una centrífuga marca HERMLE Labortechnik GmbH modelo Z206A, por 10 minutos a 6000 RPM. Posteriormente se decantó y se utilizó el sobrenadante.

2.10 Identificación cualitativa de betacianinas mediante técnica HPLC-DAD

Se identificaron las especies betacianínicas utilizando un Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución (HPLC, siglas en inglés)

SHIMADZU, LC-2030C 3D PLUS, columna Brenson Prevail C18 5 μm , 4.6 x 250 mm con horno de columna a 30 °C, bomba cuaternaria con una proporción de fase móvil ácido acético 1 %: acetonitrilo (83:17) y detector de arreglo de diodos con un rango espectral de 190-800 nm. Se tomaron 4 ml de colorante puro realizando 3 réplicas de cada una de las variedades, se pasaron por filtro de jeringa de PVDF poro de 0.45 μm , colocándolas en un vial de vidrio de 1.5 ml y se ubicó en el automuestreador inyectando 25 μl de la solución.

2.11 Liofilización

Se empleó el método de liofilización mediante la aplicación de temperaturas extremadamente bajas. Se añadieron 50 ml de colorante puro en un recipiente de vidrio, el cual fue colocado en un ultracongelador (VWR, MFV-14) durante un periodo de 2 horas.

Posteriormente, el contenido fue transferido a un liofilizador (LABCONCO, FreeZone 2.5) durante 20 horas, lo que permitió obtener colorante en forma de polvo. Asimismo, se procedió a la liofilización de 2 gramos de pulpa de pitahaya de las cuatro variedades, realizando tres repeticiones.

2.12 Cuantificación de betacianinas mediante espectrofotometría UV-VIS

Se empleó la técnica de espectrometría UV-VIS para cuantificar las betacianinas presentes en la pulpa de cuatro variedades de pitahaya. Se procedió a la reconstitución de 20 mg de pulpa liofilizada en 50 ml de agua de alta pureza.

A continuación, se sometió la muestra a un proceso de sonicación durante 10 minutos, manteniendo la temperatura por debajo de los 30 °C. Posteriormente, se llevó a cabo una filtración mediante un filtro de jeringa (PVDF con un poro de 0.45 µm) con el fin de eliminar cualquier material particulado y evitar la opacidad de la solución. La solución filtrada se vertió en una cubeta de cuarzo de 1 cm de ancho y se introdujo en un espectrofotómetro UV-VIS (SHIMADZU, UV-1800), donde se realizó la lectura de cada muestra por triplicado a una longitud de onda de 536 nm.

Mediante esta técnica, se determinó la absorbancia de las muestras, y estos valores se utilizaron en la fórmula propuesta por Castellanos-Santiago y M. Yahia en 2008 para obtener los resultados.

$$BC \left[\frac{mg}{g} \right] = \left[\frac{A(DF)(MW)Vd(1000)}{\epsilon LWd} \right]$$

Dónde:

BC= Contenido de betacianina o betaxantina.

A= valor de absorción en el máximo de absorción de 535 nm y 483 nm para betacianina y betaxantinas, respectivamente.

MW= Masa molar, betacianinas 550 g/mol.

Vd= Volumen de solución de pulpa seca (l).

ε= Constante de absorptividad molar, Betacianinas 60000 (mol l/cm) y Betaxantinas 48000 (mol l/cm).

L= Anchura de cubeta de cuarzo (1 cm).
DF= Factor de dilución.

2.13 Análisis de grupos funcionales mediante la técnica de espectrometría infrarroja con transformada de Fourier (FTIR)

Se empleó una técnica cualitativa con el propósito de identificar los enlaces de los grupos funcionales presentes en la molécula. Se añadieron 5 mg de Bromuro de potasio y 2 mg de colorante liofilizado, los cuales se maceraron en un mortero de ágata hasta obtener una mezcla homogénea. Posteriormente, la mezcla se colocó en una prensa (Set Spectroscopic Creativity, PIKE TECHNOLOGIES) con el fin de formar una pastilla, la cual fue situada en el portamuestras del equipo FTIR (thermoscientific, NICOLET iS5), generando así un espectro como resultado.

2.14 Colorimetría

Se utilizó la técnica de medición del color mediante el empleo de un colorímetro (Konica Minolta, CR-400). Se añadieron aproximadamente 25 ml de colorante en un beaker de 500 ml, con el objetivo de sumergir ligeramente el cabezal de medición en las muestras y obtener las lecturas correspondientes. Se realizó la medición por triplicado para cada una de las variedades, a fin de obtener un promedio representativo.

2.15 Análisis sensorial

Se realizaron análisis sensoriales con el fin de medir la aceptación de algunos de los colorantes obtenidos y aplicados en diferentes alimentos. La escala hedónica es una herramienta en evaluaciones sensoriales que mide la aceptación de un producto por sus características organolépticas por medio de una cartilla hedónica donde se suele incluir

términos como “muy desagradable” a “muy agradable” los cuales representan diferentes niveles de aceptación; los participantes asignan valores numéricos basados en preferencias, proporcionando datos cuantitativos para comprender y mejorar productos.

Figura 1: Puntaje de la escala hedónica

| PUNTAJE | CALIFICACIÓN |
|---------|-----------------------------|
| 9 | Me gusta muchísimo |
| 8 | Me gusta mucho |
| 7 | Me gusta moderadamente |
| 6 | Me gusta ligeramente |
| 5 | Ni me gusta, ni me disgusta |
| 4 | Me disgusta ligeramente |
| 3 | Me disgusta moderadamente |
| 2 | Me disgusta mucho |
| 1 | Me disgusta muchísimo |

Nota. La figura representa la puntuación utilizada en escala hedónica para conocer la percepción de los panelistas con respecto a las muestras.

Fuente: Paucar-Menacho, Salvador-Reyes, Guillén-Sánchez y Mori-Arismendi (2016, pp. 121-132).

Los parámetros objeto de evaluación comprendieron la apariencia, color, olor, textura y sabor. Cabe destacar que, en el contexto de esta investigación, se atribuyó una relevancia particular al factor color. A los participantes se les solicitó evaluar cada muestra, siguiendo los criterios de la escala hedónica, asignando puntajes y proporcionando calificaciones según los parámetros establecidos.

Para llevar a cabo los análisis mencionados, se consideró el siguiente panel evaluador y la muestra:

-Panelistas: 5 evaluadores no experimentados.

-Muestra: 3 productos.

-Producto 1: Helado de crema con 12 ml de colorante líquido.

-Producto 2: Helado de crema con 6 ml de colorante líquido.

-Producto 3: Yogur con 0.33 g de colorante liofilizado.

3. Resultados

3.1 Extracción de colorante

Tabla 1: Cantidad de colorante obtenido de cada variedad de pitahaya

| Muestra | P (g) | E (ml) | Agua (ml) | C (ml) |
|---------|-------|--------|-----------|--------|
| Orejona | 484 | 200 | 200 | 242 |
| Cebra | 356 | 200 | 200 | 321 |
| Lisa | 228 | 123 | 123 | 210 |
| Rosa | 378 | 245 | 245 | 396 |

Nota. La tabla muestra el peso de la pulpa con semillas de cada variedad (P), la cantidad de extracto de la pulpa (E), el volumen de agua destilada utilizado y la cantidad de colorante obtenido al filtrar (C).

3.2 Determinación de pH

Tabla 2: Valores de pH para las cuatro variedades utilizadas

| Muestra | pH |
|---------|------|
| Orejona | 3.95 |
| Cebra | 4.21 |
| Lisa | 4.57 |
| Rosa | 4.28 |

3.3 Determinación de grados Brix

Tabla 3: Valores de grados Brix para cada variedad utilizada

| Variedad | Grados Brix |
|----------|-------------|
| Orejona | 5.9 |
| Cebra | 4.4 |
| Lisa | 7.9 |
| Rosa | 11.8 |

3.4 Determinación de humedad y sólidos totales

Tabla 4: Porcentaje de humedad y sólidos totales de cada variedad utilizada

| Código de muestra | Po (g) | Pf (g) | H (%) | ST (%) |
|-------------------|--------|--------|-------|--------|
| 1O | 2.12 | 0.32 | 84.49 | 15.50 |
| 2O | 2.19 | 0.35 | 83.81 | 16.18 |
| 3O | 2.18 | 0.33 | 84.77 | 15.22 |
| \bar{X} | | | 84.35 | 15.64 |
| 1C | 2.07 | 0.21 | 89.81 | 10.18 |
| 2C | 2.05 | 0.33 | 83.56 | 16.43 |
| 3C | 2.04 | 0.35 | 82.42 | 17.57 |
| \bar{X} | | | 85.26 | 14.73 |
| 1L | 2.40 | 0.24 | 89.71 | 10.29 |
| 2L | 2.42 | 0.47 | 80.27 | 19.72 |
| 3L | 2.39 | 0.38 | 83.96 | 16.03 |
| \bar{X} | | | 84.64 | 15.35 |
| 1R | 2.24 | 0.19 | 91.09 | 8.90 |
| 2R | 2.21 | 0.40 | 81.62 | 18.37 |
| 3R | 2.26 | 0.43 | 80.61 | 19.38 |
| \bar{X} | | | 84.44 | 15.55 |

Nota. \bar{X} : promedio, Po: Peso inicial, Pf: peso final, H: Humedad, ST: Sólidos totales, 1O: muestra 1 de variedad orejona, 2O: muestra 2 de variedad orejona, 3O: muestra 3 de variedad orejona, 1C: muestra 1 de variedad cebra, 2C: muestra 2 de variedad cebra, 3C: muestra 3 de variedad cebra, 1L: muestra 1 de variedad lisa, 2L: muestra 2 de variedad lisa, 3L: muestra 3 de variedad lisa, 1R: muestra 1 de variedad rosa, 2R: muestra 2 de variedad rosa, 3R: muestra 3 de variedad rosa.

3.5 Cromatografía de capa fina

Se pudo observar que en la pulpa de cada una de las variedades estudiadas se encontró exclusivamente la presencia de betacianinas. Sin embargo, en la cáscara se identificó la presencia tanto de betacianinas como de betaxantinas.

2.6 Cromatografía por columna

A través del método de separación de compuestos mediante cromatografía en columna, se pudo observar únicamente la presencia de una coloración rojo púrpura característica de las betacianinas. Este hallazgo se obtuvo al realizar la cromatografía utilizando la pulpa de las variedades de pitahaya estudiadas. Por otro lado, al analizar el extracto de la cáscara de la pitahaya, se observó la aparición de ambas coloraciones, rojo púrpura (característica de las betacianinas) y una coloración amarilla (característica de las betaxantinas), si bien esta última se presentó en menor proporción.

Figura 2: Técnica de cromatografía de columna

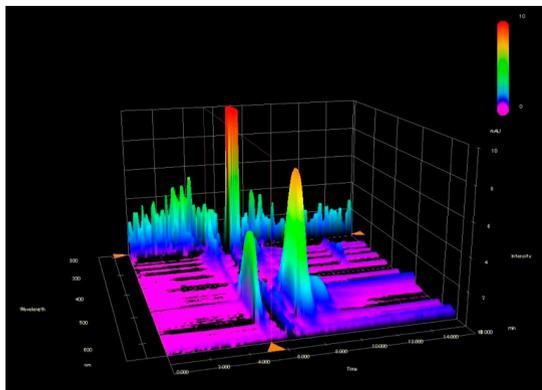


Nota. La figura muestra la separación de color amarillo (betaxantinas) y rojo (betacianinas) mediante cromatografía de columna.

2.7 Identificación cualitativa de Betacianinas mediante técnica HPLC-DAD

La representación tridimensional del espectro revela cómo los compuestos betacianínicos eluyen a distintos tiempos de retención, mientras se mantiene una longitud de onda constante de 536 nm. Cada pico observable en el espectro representa un compuesto específico, y el color asignado a cada pico refleja la intensidad relativa del compuesto en cuestión.

Figura 3: Espectro 3D

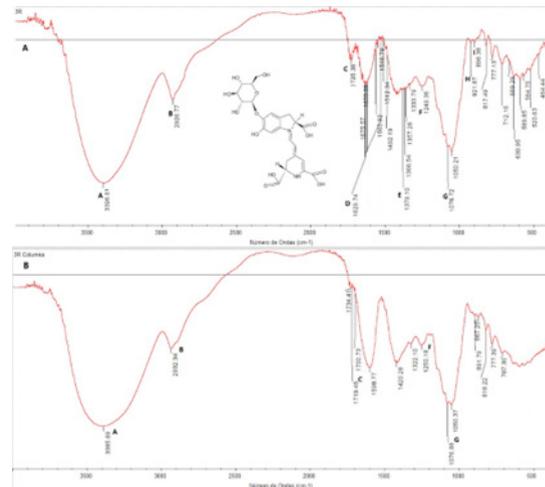


Nota. Representación en forma 3D de los compuestos que eluyen a una longitud de 536 nm, correspondiente a la variedad Rosa.

2.8 Análisis de grupos funcionales mediante la técnica de espectrofotometría infrarroja con transformada de Fourier (FTIR)

El espectro reveló la presencia de bandas de absorción en el rango de $1617-1629\text{ cm}^{-1}$, las cuales son características del enlace $C=N$. Este enlace es el grupo funcional distintivo de las betacianinas, destacando su presencia y contribuyendo a su identificación en el espectro analizado.

Figura 4: Espectro de absorción UV-VIS variedad Rosa



Nota. La tabla muestra el peso de la pulpa con semillas de cada variedad (P), la cantidad de extracto de la pulpa (E), el volumen de agua destilada utilizado y la cantidad de colorante obtenido al filtrar (C).

3.9 Cuantificación de betacianinas mediante espectrofotometría UV-VIS

Los valores proporcionados corresponden a las cuatro variedades de pitahaya: Orejona, Cebra, Lisa y Rosa. Al analizar los datos, se observó que la variedad Rosa exhibió la mayor concentración promedio de betacianinas, con un valor de 6.023258045 mg/g . Por otro lado, la variedad Cebra mostró la menor concentración de betacianinas, con un valor de 2.92355682 mg/g . Estos resultados sugieren una variación significativa en la cantidad de betacianinas presentes entre las distintas variedades de pitahaya estudiadas.

Tabla 5: Cantidad de betacianinas calculadas para cada variedad de pitahaya

| Código de muestra | Cantidad de betacianinas (B) (mg/g) |
|-------------------|--|
| 1O | 3.283190067 |
| 2O | 3.377192982 |
| 3O | 3.302304965 |
| Promedio | 3.320896005 |
| 1C | 2.961398277 |
| 2C | 2.882324917 |
| 3C | 2.926947267 |
| Promedio | 2.92355682 |
| 1L | 4.040089641 |
| 2L | 3.642093506 |
| 3L | 3.974114658 |
| Promedio | 3.885432602 |
| 1R | 5.917553191 |
| 2R | 6.204212454 |
| 3R | 5.948008488 |
| Promedio | 6.023258045 |

Nota. Valores de betacianinas obtenidos para cada muestra de las cuatro variedades.

3.10. Colorimetría

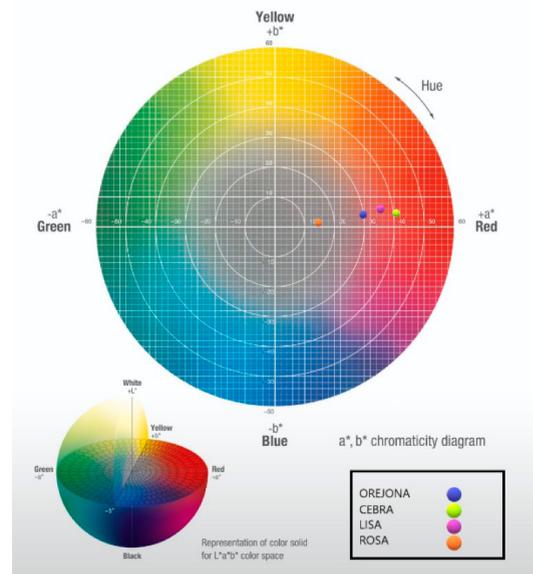
El espacio de color $L^*a^*b^*$ indica que dos colores no pueden ser rojo y verde al mismo tiempo, o amarillo y azul simultáneamente. Por tanto, L^* indica la Luminosidad, y a^* y b^* son las coordenadas cromáticas.

L^* = Luminosidad

a^* = Coordenadas rojo / verde (+a indica rojo, -a indica verde)

b^* = Coordenadas amarillo / azul (+b indica amarillo, -b indica azul) obteniéndose los siguientes resultados.

Las coordenadas obtenidas con el colorímetro fueron graficadas en el espacio de color CIELAB obteniéndose los siguientes resultados.

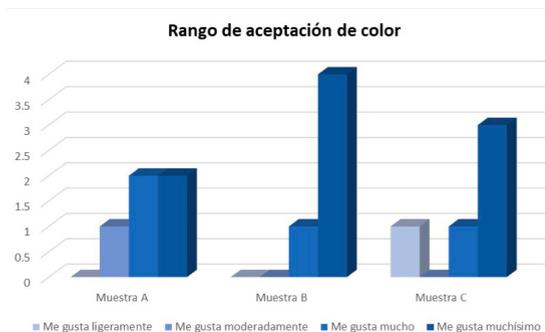
Figura 5: Gráfica de color CIELAB

Nota. La figura representa las coordenadas de a y b obtenidas con el colorímetro para las cuatro variedades de pitahaya, graficadas en el espacio de color CIELAB. Fuente: Konica Minolta (2020).

3.11 Análisis sensorial

Los resultados del análisis sensorial fueron procesados haciendo uso del Software estadístico *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) versión 28.0.1.1.

Los valores obtenidos en cuanto a frecuencia de aceptación para las tres muestras se graficaron de la siguiente manera:

Figura 6: Rango de aceptación del color

Nota. El gráfico representa el nivel de aceptación del color de las muestras A, B y C evaluadas según la escala hedónica de 9 puntos.

4. Discusión y conclusiones

4.1 Colorante

De las cuatro variedades en estudio, se obtuvieron valores de colorante en el rango de 210 ml a 396 ml en las extracciones finales. Es importante destacar que, en el caso de la variedad lisa, solo se pudo trabajar con una unidad de pitahaya debido a la falta de disponibilidad durante la realización del estudio. Además, al analizar los resultados, es crucial tener en cuenta que la cantidad de materia prima utilizada en las extracciones de las otras variedades (orejona, cebrá y rosa) también varió, a pesar de que se utilizaron dos unidades para cada una de estas extracciones.

4.2 Humedad

Los promedios de humedad de las cuatro variedades se situaron en un rango del 84 % al 85 %. Para la variedad orejona, se obtuvo un promedio de humedad en base húmeda del 84.5 %, mientras que para la

cebrá fue del 85.26 %, para la lisa del 84.64 % y para la rosa del 84.44 %. Estos valores indican que los niveles de humedad de las cuatro variedades se encuentran dentro de los rangos informados por Verona-Ruiz, Urcia-Cerna y Paucar-Menacho (2020) para pitahayas de dos especies: entre el 89 % y el 82.3 % para la especie *Hylocereus undatus* (pulpa blanca y cáscara rosa) y entre el 85 % y el 85.9 % para la especie *Hylocereus megalanthus* (pulpa blanca y cáscara amarilla).

4.3 Determinación de sólidos totales

Se obtuvo un promedio del 15 % de sólidos totales disueltos en cada variedad (Orejona 15.64 g, Cebrá 14.73 g, Lisa 15.35 g y Rosa 15.55 g). Este valor engloba la cantidad de sólidos solubles y sólidos insolubles.

4.4 Cromatografía líquida de capa fina

La cromatografía líquida de capa fina (TLC, por sus siglas en inglés) es una técnica cualitativa que permitió observar si las beta-lainas: betacianinas (rojo-violeta) y betaxantinas (amarillo-naranja) estaban presentes en la pitahaya. Además, esta técnica sirvió como base para los análisis posteriores por HPLC. En el caso de la pulpa, solo se observó el color rojo-violeta correspondiente a las betacianinas, lo que indicó la ausencia de betaxantinas. Este hallazgo fue corroborado mediante análisis por HPLC.

Por otro lado, el colorante obtenido de la pitahaya completa (pulpa y cáscara) mostró coloraciones correspondientes tanto a las betacianinas como a las betaxantinas, evidenciando la presencia de betaxantinas en la cáscara de la pitahaya.

4.5 Cromatografía de columna

Se pudo confirmar la ausencia de betaxantinas en los colorantes extraídos de las cuatro variedades, ya que solo se obtuvo un extracto de color rosado correspondiente a las betacianinas. Para purificar el extracto y eliminar otros compuestos que podrían generar señales diferentes a las del compuesto de estudio en el análisis con FTIR, se empleó la cromatografía de columna.

4.6 HPLC

Cada uno de los picos identificados en los espectros obtenidos indicó la presencia de una betacianina distinta con un tiempo de elución único. Mediante esta técnica, se logró observar la separación de betacianinas y betaxantinas, lo cual no es apreciable en detalle en la cromatografía en capa fina y en columna. Para determinar la identidad precisa de las betacianinas encontradas, se requieren técnicas espectroscópicas adicionales, como espectrometría de masas y resonancia magnética nuclear. Estas técnicas permitirán identificar los compuestos observados con mayor certeza.

4.7 FTIR

En los espectros generados, se pudieron observar las señales representativas de cada una de las bandas de absorción correspondientes a los grupos funcionales característicos de las betacianinas. Este análisis confirmó que los principales grupos identificados en las curvas de absorción correspondían a los grupos principales de la molécula. Esta confirmación fue fundamental para asegurar la presencia de la estructura de las betalainas y garantizar que se estaba trabajando con dicho compuesto.

4.8 Cuantificación

Se obtuvieron valores diferentes de betalainas (específicamente betacianinas) en cada una de las variedades. Es importante destacar que el método utilizado en esta investigación es aproximado, ya que no es específico para cada tipo de betacianina y betaxantina. El método utilizado es general para las betalainas, ya que se mide a una única longitud de onda, y para realizar una cuantificación precisa se requeriría un estándar que permita construir una curva de calibración. Por lo tanto, se asume que todas las betalainas absorben a la misma longitud de onda. Según la recopilación bibliográfica sobre cuantificación de betalainas, el método que utiliza el estándar para cuantificar es un método consensuado.

4.9 Colorimetría

El resultado de la representación gráfica de las coordenadas a y b obtenidas para las cuatro variedades analizadas, evidencia que las variedades de pitahaya Orejona, Cebrá, Lisa y Rosa tienden más al color rojo, con la diferencia que la variedad Rosa tiene mayor saturación. Todas las variedades presentaron valores de luminosidad (L) que dentro del espacio de color CIELAB corresponden a tonos oscuros.

4.10 Análisis sensorial

La muestra B correspondiente al helado elaborado con 6 ml de colorante líquido de pitahaya, fue la muestra con mayor aceptación del color percibido. Para profundizar en el nivel de aceptación de los colorantes obtenidos, aplicados en alimentos, es preciso realizar estudios con poblaciones más extensas y focalizadas. Además de probar su

aplicación en una gama más amplia de alimentos.

Conclusiones

- En base al método aproximado utilizado para la cuantificación de betalaínas podemos inferir que la variedad con mayor contenido de betacianinas es la variedad rosa con un valor de 6.02 mg/g por lo cual, se identifica como la variedad ideal para continuar posteriores investigaciones de cuantificación y aplicaciones.
- Mediante las técnicas de cromatografía de capa fina y cromatografía de columna se identificó la presencia de betacianinas (coloración roja) y betaxantinas (coloración amarilla) en la pitahaya entera, mientras que en la pulpa solo se registró betacianinas.
- El colorante en polvo obtenido a través del método de liofilización es altamente higroscópico por lo que para la implementación en la industria se deben realizar análisis y pruebas incorporando aditivos para obtener un colorante en polvo suelto que presente una absorción de humedad mínima.
- La evaluación sensorial de los diversos colorantes de pitahaya incorporados en helados de crema y yogur revela un nivel de aceptación significativamente alto para todas las muestras analizadas. Es destacable que la muestra B, representativa del helado de crema, logró una aceptación del 80 % en la categoría “Me gusta muchísimo”. Es pertinente subrayar que el parámetro evaluado en este contexto fue el color, indicando así una

respuesta favorable por parte de los evaluadores con respecto a esta característica específica.

5. Reconocimientos

A todo el equipo del Centro de Educación e Investigación en Ciencias Aplicadas (CEICA) del Ministerio de Educación, Ciencia y Tecnología, por brindarnos su apoyo en tema de instalaciones, equipo y asesoría durante todo el proceso.

A la Escuela Nacional de Agricultura “Roberto Quiñónez” (ENA), por abrirnos las puertas de la institución y de CEICA, que fue fundamental para realizar nuestra investigación.

Al M.Sc. Oscar Raúl Avilés Flores, jefe del departamento de química analítica de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, por permitirnos realizar algunos análisis de la investigación y por su entera disposición.

6. Referencias

CASTELLANOS-SANTIAGO, Elena; y M. YAHIA, Elhadi. 2008. Identification and Quantification of Betalains from the fruits of 10 Mexican Prickly Pear Cultivars by High-Performance Liquid Chromatography and Electrospray Ionization Mass Spectrometry. En: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. [En línea]. México. 56(14), pp. 5758-5764. [Fecha de consulta el: 28 de junio de 2022]. ISSN: 5758-5764. Disponible en: <https://sci-hub.se/10.1021/jf800362t>

CERVANTES-SÁNCHEZ, Martha Elena; HUICAB-MARTÍNEZ, Jorge Luis; GARCÍA-VELLA, José Alfredo y VANOYE-ELIGIO, Maximiliano. 2017. Obtaining a natural dye from the pitahaya (*Hylocereus undatus* haworth, britton and rose) from

the southern region of the state of Campeche [Obtención de un colorante natural a partir de la pitahaya (*Hylocereus undatus* haworth, britton y rose) de la región sur del estado de Campeche]. En: *Mexican Journal of Biotechnology* [En línea]. **2**(2), pp. 65-73. [Consultado el: 20 de septiembre de 2022]. ISSN: 2448-6590. Disponible en: https://docs.wixstatic.com/ugd/38ce56_56e7822931a644fe989c28776d5f517f.pdf

GONZÁLEZ-ORTIZ, Alfonso y GUERRERO-BELTRÁN, J. A. 2018. Betalaínas: importancia, presencia en vegetales y sus aplicaciones en la industria alimentaria. En: *Revista Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos de la UDLAP*. [En línea]. **11**(2), pp. 12-21. [Consultado el: 28 de junio de 2022]. Disponible en: [https://issuu.com/webudlap/docs/tsia-vol11-gonzalezortiz#:~:text=Las%20betala%C3%ADnas%20son%20compuestos%20que,beta-bel%20rojo%20\(Beta%20vulgaris\)](https://issuu.com/webudlap/docs/tsia-vol11-gonzalezortiz#:~:text=Las%20betala%C3%ADnas%20son%20compuestos%20que,beta-bel%20rojo%20(Beta%20vulgaris))

HERNÁNDEZ-CARRILLO, Alma Lizeth y RECINOS-GUERRERO, Karen Elizabeth. 2022. *Extracción y cuantificación de betalainas en cuatro variedades de pitahaya para colorante alimentario* [Tesis de pregrado de Ingeniería en Alimentos]. Universidad Dr. José Matías Delgado. Antiguo Cuscatlán, El Salvador

PAUCAR-MENACHO, Luz María, SALVADOR-REYES, Rebeca, GUILLÉN-SÁNCHEZ, Jhoseline y MORI ARISMENDI, Sigry. 2016. Efecto de la sustitución parcial de la harina de trigo

por harina de soya en las características tecnológicas y sensoriales de cupcakes destinados a niños en edad escolar. En: *Scientia Agropecuaria*. [En línea]. **7**(2), pp. 121-132 [Consultado el: 25 de julio de 2022]. ISSN: 2077-9917. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2077-99172016000200005

KONICA MINOLTA. 2020. *Colorimetric Technology*. [En línea]. [Consultado el: 16 de junio de 2022]. Disponible en: <https://www5.konicaminolta.eu/nl/measuring-instruments/media-centrum/poster-downloaden.html>

MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERÍA [MAG]. 26 de julio de 2021. La pitahaya también llamada fruta del dragón, es un cultivo exótico y poco conocido en nuestro país. En: *twitter*. [En línea] [Consultado el: 15 de junio de 2022]. Disponible en: <https://twitter.com/agriculturasv/status/141982287937497088?lang=es>

VERONA-RUIZ, Anggie, UCRIA-CERNA, Juan y PAUCAR-MENACHO, Luz. 2020. Pitahaya (*Hylocereus* spp.): Cultivo, características fisicoquímicas, composición nutricional y compuestos bioactivos. *Scientia Agropecuaria* [En línea]. **11**(3), pp. 439-453. [Consultado el: 15 de junio de 2022]. ISSN 2077-9917. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2077-99172020000300439&lng=es&nrm=iso. <http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2020.03.16>.