Optimización conjunta de factores determinantes de la calidad de extractos de remolacha

Joint optimization of quality determinants of beet extracts

Presentación 30/10/2025

Ana Maria Bogaerts

Centro de Aplicaciones Informáticas y Modelado en Ingeniería (CAIMI), Facultad Regional Rosario, UTN, E. Zeballos 1346, Rosario, Argentina

E-mail de contacto: bogaerts@xmail.com

**Resumen**

El objetivo de este trabajo es optimizar la capacidad antioxidante de extractos de remolacha. Se investigaron los efectos combinados de: temperatura (T = 40-100 ºC) y concentración de extracto (CE = 10-30 mg/ml) en el efecto capturador de radicales libres (ECRL) y poder reductor (PR), mediante un diseño factorial completo 32 combinado con un método de optimización no lineal en el ambiente de software GAMS. En una primera etapa se encontraron las condiciones óptimas de operación para cada respuesta: para ECRLMAX = 99.800%, T = 62.6°C y CE = 27.100 mg/ml y para PRMAX = 2.258 abs, T=45.6°C y CE=30.000 mg/ml. Posteriormente se procedió a obtener un único par de valores de T y CE. Se obtuvo el 98.5% de cada respuesta a T=59.9 °C y CE=29.900 mg/ml. Se demostró que este método de optimización constituye una herramienta poderosa para encontrar condiciones óptimas de operación en forma conjunta y simultánea.

**Palabras clave:** Extracción antioxidantes; Remolachas; Metodología de superficie de respuesta; Optimización no lineal

**Abstract**

The aim of this work is to optimize the antioxidant capacity of beetroot extracts. The combined effects of temperature (T=40-100°C) and extract concentration (EC=10-30 mg/ml) on the free radical scavenging effect (ECRL) and reducing power (RP) were investigated using a full factorial design 32 combined with a non-linear optimization method in the GAMS software environment. In the first stage, the optimal operating conditions were found for each response: for ECRLMAX=99.800%, T=62.6°C and EC=27.100 mg/ml and PRMAX=2.258 abs, T=45.6°C and EC=30.000 mg/ml. Subsequently, a single pair of T and EC values was obtained. 98.5% of each response was obtained at T=59.9°C and EC=29,900 mg/ml. This optimization method was a powerful tool to find optimal operating conditions jointly and simultaneously.

**Keywords:** Antioxidant extraction; Beetroot; Response surface methodology; Non-linear optimization

1. Introducción

Las remolachas son fuentes potenciales de valiosos pigmentos nitrogenados solubles en agua, denominados betalaínas, que consisten de dos grupos principales, las betacianinas rojas y las betaxantinas amarillas. Estos compuestos son neutralizadores de radicales libres y previenen la oxidación de moléculas biológicas por radicales libres (Pedreño y Escribano, 2001).

La extracción por solvente de los compuestos fenólicos a partir de fuentes vegetales es un paso fundamental en la manufactura de suplementos dietarios, nutracéuticos o alimentos funcionales que se encuentra en completo auge (Gil-Chávez et al., 2013).

La metodología de análisis de superficie de respuesta (MSR), es una herramienta estadística ampliamente utilizada para el diseño experimental de procesos a escala laboratorio, permitiendo testear diferentes variables de proceso y sus efectos interactivos mediante modelos matemáticos experimentales que describen superficies de respuestas correspondientes a determinadas respuestas o variables dependientes de interés para el rango testeado de las condiciones de operación analizadas.

Generalmente, en la evaluación de la performance de un proceso es inusual encontrar solo una variable de salida que necesite ser optimizada; dado que frecuentemente deben ser consideradas varias respuestas (Walters et al., 1999). Este punto suele ser el mayor inconveniente que presenta la resolución de modelos de superficie de respuesta por métodos estadísticos, dado que la optimización multi-respuesta se obtiene mediante el solapamiento de los gráficos de contorno de cada superficie obtenida por variable de salida; obteniéndose luego una región de interés denominada óptima donde todas las respuestas son satisfechas. Aquí, la principal desventaja del método es encontrar un único punto de condiciones de operación donde todas las respuestas sean máximas. La metodología de optimización en forma gráfica se complica aún más cuando el objetivo es analizar simultáneamente más de dos variables de salida.

En el presente trabajo se propone un modelo de optimización……….

1. Metodología

*2.1. Preparación de Extractos*

Las remolachas se acondicionaron según la técnica de Raupp et al. (2011). Luego se sometieron a tratamientos de secado en estufa de tiro forzado a las siguientes temperaturas: 40, 70 y 100 ºC. El tratamiento térmico se aplicó hasta obtener peso constante. El material se enfrió a temperatura ambiente, se colocó en film de polietileno y se almacenaron en freezer a -18 ºC.

El material seco obtenido fue molido utilizando un molino de cuchillas hasta que el material pasó por tamiz malla 40, obteniéndose una harina de remolacha. 5 g de la misma se extrajeron con 20 ml de metanol por agitación, durante 4 h a temperatura ambiente y al abrigo de la luz y luego se filtraron (Whatman Nº40). El filtrado se llevó a un volumen total de 25 ml con metanol. A partir del filtrado (solución madre), se prepararon soluciones para cada uno de los tratamientos de secado de 10, 20 y 30 mg /ml según el diseño de experimento.

*2.*2. *Determinación del Efecto Capturador de Radicales Libres (ECRL)*

Se utilizó el método espectrofotométrico detallado en el trabajo de Shimada y col. (1992). Se mezcló 1 ml de los extractos metanólicos de remolacha con 5 ml de una solución metanólica 0.1 mM de DPPH\*. Se agitó y se dejó reposar durante 50 min en la oscuridad a temperatura ambiente. Luego, se midió la absorbancia a 517 nm mediante un espectrofotómetro Jasco Modelo 7800 UV-Vis (Japan Spectroscopic Co., Tokio, Japón). Las determinaciones se realizaron por duplicado.

El %ERCL, se calculó según:

$\%ECRL=1-\frac{Absorbancia muestra}{Absorbancia blanco de reactivo} × 100$ (1)

*2.*3. *Determinación del Poder Reductor (PR)*

Se utilizó el método espectrofotométrico detallado en el trabajo de Shimada y col. (1992). Se mezcló 1 ml de los extractos metanólicos de remolacha con 5 ml de una solución metanólica 0.1 mM de DPPH\*. Se agitó y se dejó reposar durante 50 min en la oscuridad a temperatura ambiente. Luego, se midió la absorbancia a 517 nm mediante un espectrofotómetro Jasco Modelo 7800 UV-Vis (Japan Spectroscopic Co., Tokio, Japón). Las determinaciones se realizaron por duplicado.

*2.*4. *Diseño de Experimento*

El diseño debe permitir la detección de la falta de ajuste, para lo cual se requieren repeticiones al menos en el centro del diseño. Para construir un modelo se necesitan como mínimo la misma cantidad de puntos experimentales (que cubran un rango considerable de todas las variables independientes), que coeficientes a estimar (Gutiérrez Pulido, 2008).

En este trabajo, se utilizó un diseño de experimento factorial completo 32 (Tabla 1), para determinar el efecto de dos variables independientes del proceso a tres niveles: temperatura de secado (40, 70 y 100 ºC) y concentración del extracto (10, 20 y 30 mg /ml) en los valores de ECRL y PR (variables dependientes).

El diseño de experimento permite luego identificar las condiciones óptimas de procesamiento en la obtención de los antioxidantes. Las respuestas o variables dependientes, que poseen formas desconocidas, se pueden estimar a través de expresiones polinómicas que representan las variaciones causadas por los efectos de orden lineal y cuadráticos, así como por las interacciones de las variables independientes (Montgomery, 2004).

Los datos obtenidos fueron ajustados a una ecuación polinómica de segundo orden, ampliamente utilizada para análisis de MSR en operaciones unitarias de alimentos, y que responde a la siguiente estructura general:

$Y=β\_{0 }+\sum\_{i=1}^{2}β\_{i}X\_{i }+\sum\_{i=1}^{2}β\_{ii}X\_{i }^{2}+β\_{ij}X\_{i }X\_{j }$ (2)

dónde: Y es la variable dependiente (respuesta estimada): ECRL y PR, β0 es el coeficiente de intercepción, βi son los términos lineales, βii son los términos cuadráticos, βij son los términos de interacción, Xi y Xj son los niveles de las variables independientes estudiadas: temperatura de secado y concentración de extracto, respectivamente.

*2.*5. *Modelado. Estrategia de Resolución*

La optimización simultánea de respuestas múltiples requiere construir en primer lugar un modelo apropiado para cada respuesta (optimo individual) y después encontrar un par único de condiciones de operación que optimice en forma conjunta todas las respuestas (optimo simultáneo). Existen dos enfoques comúnmente aplicados para la optimización de respuestas múltiples (Montgomery, 2004): uno gráfico y el otro analítico, basado en una función de deseabilidad, de Derringer y Suich (1981).El modelo aquí propuesto, a diferencia de las técnicas de optimización empleadas en los softwares estadísticos utilizados generalmente para problemas de MSR, permite explorar las condiciones de operación óptimas para cada respuesta, como también especificar una función objetivo (FO) que permita maximizar simultáneamente ambas respuestas. En una primera etapa se realiza el ajuste de los datos experimentales a las expresiones polinómicas. En una segunda parte, con el modelo ajustado se determinan las condiciones óptimas de operación del proceso, para las respuestas en forma individual, donde:

$FO1=MAX (ECRL)$ (3)

$FO2=MAX (PR)$ (4)

Posteriormente se plantea un problema de optimización auxiliar de forma de obtener un único valor de T y CE que maximice conjunta y simultáneamente el porcentaje de respuesta (% RES) de ECRL y PR obtenidos en la FO1 y FO2, siendo:

$FO3=MAX (\% RES ECRL+\% RES PR)$ (5)

En la última etapa, para comprobar la adecuación de los modelos, se formuló un módulo de análisis de la varianza mediante la implementación de ecuaciones no lineales, donde los valores estimados se compararon con los obtenidos con el software estadístico Statgraphics Centurion XVI.

El modelo se realizó mediante la escritura de un algoritmo computacional utilizando un método no lineal de optimización en el ambiente del software GAMS. Se utilizó el resolvedor local CONOPT basado en el algoritmo del gradiente reducido generalizado (Drud, 1992).

1. Resultados

*3.1. Resultados Experimentales*

La Tabla 1 muestra el diseño matricial de las variables independientes codificadas de acuerdo al diseño de experimento factorial 32 descripto arriba y los resultados experimentales para el efecto capturador de radicales libres (ECRL) y poder reductor (PR). Se reportan los valores promedios ±DS (desviación estándar).Desde el punto de vista experimental para el efecto capturador de radicales libres (ECRL), se ha demostrado que la actividad antioxidante de los compuestos naturales está involucrada en la terminación de las reacciones de radicales libres (Shimada et al., 1992)...….Por otro lado, el poder reductor de los extractos de remolacha podría ser debido a su capacidad donante de hidrógeno como se describe por Shimada et al. (1992). Los valores obtenidos para el PR son similares a valores obtenidos para otros vegetales de alto contenido en antioxidantes, como son los extractos de tomates y pimientos deshidratados (Chang et al., 2006).

|  |
| --- |
| **Tabla 1.** Condiciones de operación del diseño de experimentos 32 y resultados experimentales |
| CorridasExp. | Factores | ECRL | PR |
| T (ºC) | CE (mg/ml) |
| 1 | -1 (40) | -1 (10) | 46.99 ± 0.35 | 0.685 ± 0.003 |
| 2 | -1 (40) |  0 (20) | 99.16 ± 0.05 | 1.427 ± 0.048 |
| 3 | -1 (40) |  1 (30) | 99.80 ± 0.10 | 2.256 ± 0.082 |
| 4 |  0 (70) | -1 (10) | 58.19 ± 1.28 | 0.746 ± 0.007 |
| 5 |  0 (70) |  0 (20) | 99.61 ± 0.20 | 1.487 ± 0.044 |
| 6 |  0 (70) |  1 (30) | 99.80 ± 0.10 | 2.313 ± 0.122 |
| 7 | 1(100) | -1 (10) | 33.09 ± 1.92 | 0.732 ± 0.014 |
| 8 | 1(100) |  0 (20) | 79.88 ± 0.59 | 1.465 ± 0.002 |
| 9 | 1(100) |  1 (30) | 99.31 ± 0.20 | 1.910 ± 0.098 |

*3.2. Modelos de Regresión Obtenidos para las Respuestas Individuales: Efecto Capturador de Radicales Libres (ECRL) y Poder Reductor (PR)*

La Tabla 2 presenta los coeficientes de regresión obtenidos por el modelo propuesto en GAMS y los correspondientes valores obtenidos por el software estadístico para ECRL y PR, respectivamente.

|  |
| --- |
| **Tabla 2.** Coeficientes de regresión para ECRL y PR |
|  | ECRL | PR |
| Coeficiente | Pred. Gams | Pred. Stat. | Pred. Gams | Pred. Stat. |
| β0 | -4.289 101 | -5.734 101 |  -1.093 100 | -9.049 10-1 |
| β1 (T) |  5.462 10-1 |  1.066 100 |  2.308 10-2 |  2.109 10-2 |
| β2 (CE) |  9.258 100 |  9.902 100 |  1.103 100 |  1.027 10-1 |
| β 11 (T2) | -6.146 10-3 | -1.055 10-1 |  -1.134 10-4 | -1.142 10-4 |
| β 22 (CE2) | -1.802 10-1 | -2.002 10-1 |  -2.016 10-4 | -1.950 10-4 |
| β 12 (T CE) |  8.263 10-3 |  1.118 10-2 |  4.320 10-4 |  3.275 10-4 |

El valor del coeficiente lineal de CE es 10 veces mayor que el valor de T, lo cual significa que un incremento en la concentración del extracto influye altamente en el valor de ECRL, mientras que un incremento en el valor de T tiene menor influencia en el valor de la respuesta.………



**Figura 1.** Gráficos de superficie de respuesta. Efecto combinado de la concentración del extracto y la temperatura para: (a) Efecto capturador de radicales libres (b) Poder reductor.

Posteriormente, se verificó el ajuste del modelo, para comprobar la aproximación adecuada del modelo propuesto, con los valores experimentales y los obtenidos con el software estadístico.

Por último, la Tabla 3 reporta los valores óptimos para cada respuesta y las condiciones de operación T (ºC) y CE (mg /ml) a las que se obtienen los mismos. Como puede apreciarse, la máxima respuesta (100%) de cada variable dependiente, se obtiene a diferentes condiciones de operación. Esto se debe a que en Gams a diferencia del software estadístico, se pueden agregar restricciones, que se desprenden de conocer la física del problema o condiciones matemáticas (por ejemplo, un porcentaje no puede ser mayor a 100%, como en el caso del % ECRL).

|  |
| --- |
| **Tabla 3.** Valores óptimos para las respuestas individuales |
|  |  | Gams | Statgraphics |
| ECRL | Valor óptimo (%) | 99.800 | 108.465 |
| T (º C) | 62.6 |  64.6 |
| CE (mg /ml) | 27.100 |  26.535 |
| PR | Valor óptimo (abs) |  2.258 |  2.277 |
| T (º C) | 45.6 |  49.3 |
| CE (mg /ml) | 30.000 |  30.000 |

*3.3. Optimización Conjunta de ECRL y PR*

Como se observa en la sección anterior, las condiciones de operación óptimas para obtener los máximos en las dos respuestas estudiadas: ECRL y PR en el modelo cuadrático, difieren. Por lo tanto, en esta sección se plantea un problema de optimización auxiliar de forma de obtener un único par de valores de T y CE en la optimización conjunta y simultánea, en la cual se busca maximizar el porcentaje de respuesta de ECRL y PR. La solución de compromiso óptima implica que se obtengan el 98.5% de las respuestas máximas de cada propiedad cuyos valores son reportados en la Tabla 4.

|  |
| --- |
| **Tabla 4**. Optimización conjunta |
| Respuesta | % Respuesta | Valor Respuesta | T (º C) | CE(mg /ml) |
| ECRL | 98.5 | 98.305 | 59.9 | 29.900 |
| PR | 2.225 |

*3.4. Validación Estadística del Modelo*

La adecuación del modelo fue testeada implementando las ecuaciones estadísticas del R2 ajustado y las suma secuenciales de los cuadrados para cada coeficiente de regresión. ………..

1. Conclusiones

Combinando la MSR y un diseño factorial completo 32, se realizó un modelo de optimización para maximizar la capacidad antioxidante de extractos de remolacha. Se utilizaron modelos cuadráticos para optimizar las respuestas ECRL y PR, que fueron efectivos para estimar el efecto combinado de las dos variables independientes: temperatura de secado (T) y concentración del extracto (CE) sobre la extracción por solvente de compuestos fenólicos. Las condiciones óptimas que maximizan cada variable respuesta resultaron: T=62.6°C y CE=27.1mg/ml para ECRLMAX=99.800% y T=45.6°C y CE=30 mg/ml para PRMAX=2.258 abs. Se encontró, además, a través de una optimización conjunta, un único par de valores T =59.9 ° C y EC = 29.900 mg / ml que permitió obtener el 98.2% de las respuestas máximas…. Como trabajo futuro, se puede plantear….

Agradecimientos

Se agradece el apoyo financiero provisto por la Universidad Tecnológica Nacional – Facultad Regional Rosario (UTN-FRRo) y el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

Referencias Bibliográficas

Chang, Ch., Lin, H., Chang, Ch., Liu, Y. (2006) Comparisons on the antioxidant properties of fresh, freeze dried and hot-air-dried tomatoes. Journal of Food Engineering, 77, 478–485.

Derringer, G., Suich, R. (1981). Simultaneous Optimization of Several Response Variables. Journal of Quality Technology, 12, 311-342.

Drud, A. (1992). CONOPT – a large scale GRG code. ORSA Journal on Computing, 6, 207–216.

Duh, P., Yen, G. (1997). Antioxidant activity of three herbal water extracts. Food Chemistry, 60(4), 639-645.

Gil-Chávez, G., Villa, J., Ayala-Zavala, J., Heredia, J., Sepulveda, D., Yahia, E., González-Aguilar, G. (2013). Technologies for extraction and production of bioactive compounds to be used as nutraceuticals and food ingredients: an overview. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 12(1), 5-23.

Gutiérrez Pulido, H., de la Vara Salazar, R. (2008). Análisis y diseño de experimentos. México: Editorial: McGraw-Hill/Interamericana.

Montgomery, D. (2004). Diseño y análisis de experimentos. México: Editorial Limusa.

Pedreño, M. A., Escribano, J. (2001). Correlation between antiradical activity and stability of betanine from Beta vulgaris L. roots under different pH, temperature and light conditions. Journal of the Science of Food and Agriculture, 81, 627–631.

Raupp, D., Rodrigues, E., Rockenbach, I., Carbonar, A., Faber de Campos, P., Borsato A., V., Fett, R. (2011). Effect of processing on antioxidant potential and total phenolics content in beet (Beta vulgaris L.). Ciência e Tecnologia de Alimentos, 31(3), 688-693.

Sakac, B., Pericin, D., Mandic, A., Kormanjos, S. (2004). Antioxidative properties of ethanolic extract of sugar beet pulp. Acta Periodica Technologica, 35, 255-264.

Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., Nakamura, T. (1992). Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. Journal of Agricultural Food Chemistry, 40(6), 945-948.

Walters, F., Morgan, S., Parker, LL., Deming, S. (1999). Sequential simplex optimization. Sweden: MultiSimplex AB.