



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA: BIOQUÍMICA Y FARMACIA

“EXTRACCIÓN DE COLORANTES NATURALES DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa*), MORA ANDINA (*Rubus glaucus*) y UVA (*Vitis vinífera*) PARA EL USO EN LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS”

TRABAJO DE TITULACIÓN

TIPO: TRABAJO EXPERIMENTAL

Presentado para optar al grado académico de:

BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

AUTORA: LLAMUCA ARÉVALO AMARILIS ELIZABETH

TUTOR: ING. HANNÍBAL LORENZO BRITO MOINA, PhD.

Riobamba – Ecuador

2018

© 2018, AMARILIS ELIZABETH LLAMUCA ARÉVALO

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Trabajo de titulación certifica que el trabajo de investigación: Tipo “EXTRACCIÓN DE COLORANTES NATURALES DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa*), MORA ANDINA (*Rubus glaucus*) y UVA (*Vitis vinífera*) PARA EL USO EN LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS” de responsabilidad de la señorita egresada Amarilis Elizabeth Llamuca Arévalo ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del trabajo de titulación, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Ing. Hanníbal Brito., PhD.

**DIRECTOR DEL TRABAJO
DE TITULACIÓN**

BQF. Aida Miranda

MIEMBRO DE TRIBUNAL

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, AMARILIS ELIZABETH LLAMUCA ARÉVALO, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Amarilis Elizabeth Llamuca Arévalo

DEDICATORIA

Este trabajo se lo dedico primordialmente a Dios por haberme dado toda la sabiduría y entendimiento necesarios, por siempre derramar sus bendiciones sobre mí y hacer posible todo lo que para mí era imposible.

A mi padre y a mi madre quienes son el eje primordial de mi existencia, ellos me enseñaron que con trabajo lucha y perseverancia se consigue lo que se anhela, por la ayuda económica y apoyo incondicional que siempre me brindaron, por sus palabras de aliento y ánimo cuando más lo necesitaba.

A mi familia por ser la principal motivación de superación, por toda la confianza que implantaron en mí, para que consiguiera este sueño.

A Danny por ser la persona que ha estado junto a mí en todo momento, quien a más de brindarme su cariño y aprecio también me brindo su ayuda en lo que ha podido, por ser testigo del esfuerzo que puse para alcanzar esta meta.

Amarilis

AGRADECIMIENTO

En primer lugar quiero agradecer a Dios por proveerme todo lo necesario en la vida para alcanzar este sueño que un día me propuse y que conjuntamente con el emprendí este largo camino, quien siempre me extendió su mano para levantarme y continuar por el amor infinito que me ha dado.

A mi director de tesis, Ing. Hanníbal Brito, persona admirable, quien me acogió para realizar este trabajo y a la vez por su aporte en conocimientos importantes para culminar esta meta.

A BQF. Aída Miranda quien me ha guiado con paciencia dedicación y conocimientos para lograr alcanzar esta meta académica planteada.

A mis estimados compañeros y amigos que formaron parte de esta etapa estudiantil con los cuales se formó un lazo de amistad y conocimiento.

Gracias.

Amarilis

TABLA DE CONTENIDOS

	Pág.
RESUMEN.....	xiv
SUMMARY	xv
INTRODUCCIÓN	16
CAPÍTULO I	
1	MARCO TEÓRICO 21
1.1	Fundamentación conceptual y teórica..... 21
1.1.1	<i>Jamaica (Hibiscus sabdariffa)</i>..... 21
1.1.1.1	<i>Descripción botánica</i> 21
1.1.1.2	<i>Clasificación taxonómica</i> 22
1.1.1.3	<i>Ubicación geográfica</i> 22
1.1.1.4	<i>Usos de la flor de Jamaica</i> 22
1.1.2	<i>Mora andina (Rubus glaucus)</i>..... 22
1.1.2.1	<i>Descripción botánica</i> 23
1.1.2.2	<i>Clasificación Taxonómica</i> 23
1.1.2.3	<i>Ubicación geográfica</i> 23
1.1.2.4	<i>Usos de la fruta de la mora andina</i> 24
1.1.3	<i>Uva (Vitis vinífera)</i>..... 24
1.1.3.1	<i>Descripción botánica</i> 24
1.1.3.2	<i>Clasificación taxonómica</i> 25
1.1.3.3	<i>Usos de la uva</i> 25
1.1.4	<i>Composición nutricional de los alimentos</i> 25
1.1.5	<i>Colorante</i> 26
1.1.5.1	<i>Colorante Natural</i> 26
1.1.5.2	<i>Colorante Sintético</i> 27
1.1.5.3	<i>Aditivo alimentario</i> 27
1.1.5.4	<i>Pigmentos</i> 27
1.1.5.5	<i>Antocianinas</i> 27
1.1.6	<i>Clasificación de colorantes</i> 27
1.1.6.1	<i>Colorantes sintéticos</i> 27
1.1.6.2	<i>Colorantes naturales</i> 28
1.1.7	<i>Tipo de pigmentos vegetales</i>..... 28
1.1.7.1	<i>Clorofilicos</i> 28

1.1.7.2	<i>Carotenoides</i>	28
1.1.7.3	<i>Antociánicos</i>	28
1.1.7.4	<i>Flavonoides</i>	29
1.1.7.5	<i>Betaláinicos</i>	29
1.1.8	<i>Clasificación de los pigmentos naturales</i>	29
1.1.9	<i>Antocianinas</i>	30
1.1.9.1	<i>Estructura de la antocianina</i>	31
1.1.9.2	<i>Factores que afectan la estabilidad de las antocianinas</i>	32
1.1.9.3	<i>Propiedades funcionales de las Antocianinas</i>	33
1.1.10	<i>Importancia del color en los alimentos</i>	33
1.1.11	<i>Toxicología de colores exentos de certificación</i>	33
1.1.12	<i>Uso de los colorantes</i>	34
1.1.13	<i>Extracción de pigmentos</i>	34
1.1.13.1	<i>Extracción por Soxhlet</i>	34
1.1.13.2	<i>Etapas de la extracción con Soxhlet</i>	35
1.1.13.3	<i>Ventajas de extractor Soxhlet</i>	35
1.1.14	<i>Selección y acondicionamiento del material vegetal</i>	36
1.1.14.1	<i>Selección</i>	36
1.1.14.2	<i>Proceso de Limpieza</i>	36
1.1.14.3	<i>Proceso de Secado</i>	36
1.1.15	<i>Análisis proximal</i>	36
1.1.15.1	<i>Método de desecación en estufa de aire caliente</i>	36
1.1.15.2	<i>Método de incineración en mufla</i>	37
1.1.15.3	<i>Preparación del solvente</i>	37
1.1.15.4	<i>Preparación del ácido cítrico</i>	38
1.1.16	<i>Métodos de identificación</i>	38
1.1.16.1	<i>Espectrofotometría UV. Visible</i>	38
1.1.16.2	<i>Espectroscopia de Infrarrojo</i>	39

CAPÍTULO II

2	MARCO METODOLÓGICO	40
2.1	Lugar de Investigación	40
2.2	Tipo y diseño de investigación	40
2.3	Unidad de análisis	40
2.4	Población de estudio	40
2.5	Tamaño de muestra	40
2.6	Adquisición del material vegetal	41

2.7	Selección de la muestra	41
2.8	Materiales, equipos y reactivos	41
2.9	Técnicas de recolección de datos.....	43
2.10	Técnicas y métodos.....	44
2.11	Técnica de extracción por Soxhlet	45
2.12	Técnica para la concentración del extracto	46
2.13	Análisis fisicoquímicos para el colorante natural.....	46
2.14	Pruebas microbiológicas	47
2.15	Aplicación de colorante en un yogur natural.....	49

CAPÍTULO III

3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	50
3.1	Resultados	50
3.1.1	<i>Resultado del análisis proximal de las materias primas</i>	<i>50</i>
3.1.2	<i>Resultado del número de reflujos y tiempo de extracción</i>	<i>51</i>
3.1.3	<i>Resultado del porcentaje de rendimiento de los colorantes</i>	<i>53</i>
3.1.4	<i>Resultado de los parámetros fisicoquímico de los colorantes naturales</i>	<i>54</i>
3.1.5	<i>Resultado de la solubilidad de los colorantes naturales</i>	<i>58</i>
3.1.6	<i>Resultado del Análisis de Espectrofotometría UV-Visible.....</i>	<i>59</i>
3.1.7	<i>Resultados de Análisis de Microbiológico</i>	<i>61</i>
3.1.8	<i>Control de pH y características organolépticas del yogur con colorantes</i>	<i>61</i>
3.1.9	<i>Resultado de las encuesta de aceptabilidad.....</i>	<i>65</i>
	CONCLUSIONES.....	70

RECOMENDACIONES

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1-1: Clasificación taxonómica de <i>Hibiscus sabdariffa</i>	22
Tabla 2-1: Clasificación taxonómica de (<i>Rubus glaucus</i>).....	23
Tabla 3-1: Clasificación taxonómica de <i>Vitis vinifera</i>	25
Tabla 4-1: Composición nutricional de los productos agrícolas en estudio.....	26
Tabla 5-1: Clasificación de colorantes naturales según su solubilidad.....	29
Tabla 6-1: Clasificación de colorantes naturales según su naturaleza química	30
Tabla 1-2: Lista de materiales de protección y vegetal.....	41
Tabla 2-2: Lista de materiales utilizados en los diferentes procedimientos.....	41
Tabla 3-2: Lista de equipos utilizados en los diferentes procedimientos.....	42
Tabla 4-2: Lista de Reactivos utilizados en los procedimientos	43
Tabla 5-2: Procedimiento para el análisis físico-químico del colorante	46
Tabla 6-2: Procedimiento para el análisis microbiológico.....	48
Tabla 1-3: Análisis bromatológico proximal	50
Tabla 2-3: Resultado del número de reflujos vs el tiempo de extracción de cada colorante. ...	52
Tabla 3-3: Rendimiento de la extracción de los colorantes naturales	53
Tabla 4-3: Resultados de pH de los colorantes	54
Tabla 5-3: Resultados de los °Brix promedio de los colorantes	55
Tabla 6-3: Resultados del Índice de refracción de los colorantes	56
Tabla 7-3: Resultados de la densidad de los colorantes	57
Tabla 8-3: Resultados de la espectrofotometría UV-Visible de los colorantes.....	60
Tabla 9-3: Resultado de Análisis Microbiológico	61
Tabla 10-3: Control de pH del yogur con colorante de mora fresca y seca	62
Tabla 11-3: Control de pH del yogur con colorante de jamaica fresca y seca.....	63
Tabla 12-3: Control de pH del yogur con colorante de uva fresca y seca.....	64
Tabla 13-3: Resultados de aceptabilidad del yogur con el colorante de mora fresca y seca.....	66
Tabla 14-3: Resultados de aceptabilidad del yogur con el colorante de jamaica fresca y seca	67
Tabla 15-3: Resultados de aceptabilidad del yogur con el colorante de uva fresca y seca	68

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1-1: <i>Hibiscus sabdariffa</i>	21
Figura 2-1: <i>Rubus glaucus</i>	23
Figura 3-1: <i>Vitis vinifera</i>	24
Figura 4-1: Estructura de antocianina.....	31
Figura 5-1: Estructura de las antocianinas vegetales más comunes.....	31
Figura 6-1: Transformación molecular de la cianidina en función del pH	32
Figura 7-1: Extractor Soxhlet	35
Figura 1-2: Diagrama de flujo de la extracción y estudio del colorante	44
Figura 1-3: Solubilidad de colorantes	58

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Pág.
Gráfico 1-3: pH de los colorantes	54
Gráfico 2-3: °Brix de los colorantes obtenidos	55
Gráfico 3-3: Índice de refracción de los colorantes	56
Gráfico 4-3: Densidad de los colorantes	57
Gráfico 5-3: Control de pH del yogur con los colorantes de mora	62
Gráfico 6-3: Control de pH del yogur con los colorantes de jamaica	63
Gráfico 7-3: Control de pH del yogur con los colorantes de uva.....	64
Gráfico 8-3: Porcentaje de aceptación de yogur con los colorantes naturales de mora	66
Gráfico 9-3: Porcentaje de aceptación de yogur con los colorantes naturales de jamaica.....	67
Gráfico 10-3: Porcentaje de aceptación de yogur con los colorantes naturales de uva.....	68

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A	Solvente para la extracción
Anexo B	Análisis físico-químicas del solvente
Anexo C	Pesado de la materia prima
Anexo D	Proceso de secado con el equipo secador de bandeja tipo armario
Anexo E	Análisis de Ceniza y humedad
Anexo F	Proceso de estación con el equipo Soxhlet
Anexo G	Pesado de materia prima extraída
Anexo H	Proceso de concentración
Anexo I	Proceso de filtrado del colorante
Anexo J	Medición de pH de los colorantes concentrados
Anexo K	Análisis de densidad de los colorantes
Anexo L	Análisis de grados brix e índice de refracción
Anexo M	Análisis espectrofotometría UV visible
Anexo N	Regresión lineal y ecuación cuadrática
Anexo O	Análisis microbiológico
Anexo P	Aplicación del colorante
Anexo Q	Control de pH del yogurt con los colorantes naturales
Anexo R	Encuestas

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

OPS	Organización Panamericana de la salud
OMS	Organización Mundial de la salud
SS	Sólidos solubles (%)
W	Peso
%	Porcentaje
C	Concentración
V	Volumen (ml)
°Bx	Grados Brix
Abs	Absorbancia
ρ	Densidad (g/ml)
ρ_c	Densidad del colorante (g/ml)
ρ_w	Densidad del agua (g/ml)
x _p	Peso de picnómetro vacío (g)
x _c	Peso de picnómetro con el colorante (g)
x _w	Peso de picnómetro con agua destilada (g)
CMF	Colorante de mora fresca
CMS	Colorante de mora seca
CJF	Colorante de jamaica fresca
CJS	Colorante de jamaica seca
CUF	Colorante de uva fresca
CUS	Colorante de uva seca
t	Prueba t para análisis de varianza
ppm	Partes por millón

RESUMEN

El presente trabajo de titulación tiene como objetivo extraer colorantes naturales a partir de cálices de jamaica (*Hibiscus Sabdariffa*), fruto de mora andina (*Rubus glaucus*) y hollejo de uva (*Vitis vinífera*) para uso en la industria de alimentos. Se realizó el análisis bromatológico proximal de cada una de las materias primas; para la extracción se utilizó el método con solventes (método Soxhlet), etanol al 90%, ácido cítrico 0.03%, 50g de materia fresca y materia seca que se obtuvo usando un secador de bandeja tipo armario a 45°C, posterior a ello se realiza la concentración en un Rotavapor Buchi 461 Water Bath a temperatura de 50±5°C por un tiempo aproximado de 1-2 horas para obtener los colorantes naturales concentrados, a estos se realizó los análisis físico-químicos, microbiológicos y la aplicabilidad en un yogur natural. La extracción del colorante arrojó mayor intensidad en las materias primas secas utilizadas destacándose el que proviene de los cálices de jamaica. El resultado fue la obtención del pigmento antocianina con pH ácidos solubles en agua e insolubles en sustancias grasas, con el análisis microbiológico, los colorantes muestran ser inocuos. Al aplicar los colorantes obtenidos a un yogur natural no se evidenció sinéresis, ni cambios desagradables por tanto demuestran ser apropiados para su uso en alimentos. Las encuestas muestran una buena aceptabilidad del color del yogur en comparación del olor y sabor. Se concluye que los colorantes obtenidos mantienen condiciones óptimas para el uso del ser humano y puede ser aplicado a un producto lácteo en este caso el yogur, ya que por su condición natural no afectaría la salud del consumidor.

Palabras clave: <CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES>, <BIOQUÍMICA>, <COLORANTE NATURAL>, <JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa*)>, <MORA ANDINA (*Rubus glaucus*)>, <UVA (*Vitis vinífera*)>, <PIGMENTO>, <CÁLICES>, <HOLLEJO>.

SUMMARY

The objective of the present university degree work is to extract natural dyes from Jamaica chalice (*Hibiscus Sabdariffa*), Andean blackberry (*Rubus glaucu*) and grape skins (*Vitis Vinifera*) in the application of food industry. The proximal bromatological analysis of each of the raw materials was performed; for extraction, the solvent method (Soxhlet method), 90% ethanol, 0.03% citric acid, 50g of fresh material and dry matter was applied using a cabinet-type tray dryer at 45 ° C, After that, the concentration is carried out in a Buchi Rotavapor 461 Water Bath at a temperature of 50±5°C for an approximate time of 1-2 hours in order to obtain the concentrated natural dyes, in addition of these, it was analyzed physical-chemical, microbiological and the applicability in a natural yogur. The extraction of the dye showed greater intensity in the dry raw materials used, especially the one coming from Jamaica chalice.

The result was the obtaining of the anthocyanin pigment with water-soluble acid pH and insoluble in fatty substances, with the microbiological analysis, the dyes show to be innocuous. When applying the dyes obtained to a natural yogur, there were no syneresis observed, even unpleasant changes, therefore they are suitable for use in food. The surveys revealed a high percentage of acceptability of the yogur the color in contrast to the smell and taste.

It is concluded that the colorants obtained maintain optimum conditions for the use of the human being, it can be applied to a dairy product in this case the yogur one, due to its natural condition would not affect the consumer health.

Keywords: <EXACT AND NATURAL SCIENCES>, <BIOCHEMISTRY>, <NATURAL COLORANT>, <JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa*)>, <ANDEAN BLACKBERRIE (*Rubus glaucus*)>, <GRAPE (*Vitis vinifera*)>, <PIGMENT>, <CHALICES >, <SKIN>.

INTRODUCCIÓN

Identificación del Problema

En la actualidad la industria de alimentos ha usado intencionalmente aditivos alimentarios como colorantes, saborizantes y conservantes con la finalidad de modificar y mejorar aspectos físicos, químicos y sensoriales de los alimentos, convirtiéndose estos aditivos en compuestos indispensables del alimento; por lo que el uso excesivo de aditivos, como los colorantes sintéticos ha desatado grandes polémicas y discusiones científicas por su impacto negativo en la salud. (OMS/OPS, 2013, p.8)

Hoy en día la mayor parte de lo que adquirimos como alimento, es artificial o contiene aditivos sintéticos. Siendo los más utilizados los colorantes sintéticos que se encuentran en gaseosas, gelatinas, postres, bebidas, jugos artificiales, caramelos y yogures que están al alcance de toda la población, ocasionando a largo plazo alergias y otras patologías como asma, urticaria crónica, así también ciertos trastornos psicomotores que pueden estar efectuándose por una acción directa del colorante en el sistema nervioso central. (León et al., 2000, p.12)

La Organización Mundial de la Salud, ha evaluado los riesgos en la salud por el uso de aditivos alimentarios, ya que estos resultan de gran peligro para la humanidad, por lo que recomienda que el uso de estos aditivos sea en dosis específicas y para productos alimenticios concretos. (OMS, 2018, p.3)

En el Ecuador ha existido una sobredemanda de productos alimenticios perjudiciales para la salud y el medio ambiente, razón por lo que las personas requieren productos saludables. (Bowen, 2015, p.4)

En nuestro país no se ha visto mayor interés en la extracción de colorantes naturales de los productos agrícolas que presentan gran cantidad de pigmentos de los cuales se puede obtener una gran variedad de colorantes para el uso industrial. Los mismos que pueden beneficiar a las personas, que en su diario vivir requieren de alimentos que no contengan aditivos artificiales que afecten a su salud.

Por lo que se ve la necesidad de realizar la obtención de colorantes naturales a partir de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*), mora andina (*Rubus glaucus*) y uva (*Vitis vinífera*) como una alternativa

de colorantes naturales y buenos sustitutos eficaces de colorantes artificiales, brindando así a los consumidores alimentos de mayor seguridad que a largo plazo no afecten su salud.

Justificación de la investigación

Uno de los trascendentales desafíos en la industria de alimentos es el reemplazo de colorantes artificiales por colorantes naturales, pero debido al déficit en la producción y fabricación de estos, continua siendo un reto. Los consumidores hoy en día exigen alimentos sin aditivos lo más natural posible, tendencia que ha motivado a la industria alimenticia a buscar de una u otra manera sustituir colorantes sintéticos por naturales. (Gamarra, 2009, p.4)

En los últimos años los colorantes que proceden de fuentes naturales han mejorado notoriamente, como es el caso de carotenoides y antocianinas, compuestos que a más de proveer sus colores, también son fuentes de antioxidantes que a la vez ayudan a la prevención de enfermedades crónico-degenerativas volviéndose de gran interés para ser estudiadas. (Gaete, 2017, p.3)

Los pigmentos naturales como las antocianinas tienen un gran potencial para la sustitución de colorantes artificiales razón por lo que es significativo conocer aspectos bioquímicos de estos pigmentos que abarcan una gama de colores desde el rojo al azul, razón por la que las antocianinas resultan ser una nueva alternativa para la obtención de colorantes naturales con valor agregado para el consumo del ser humano. (Garzón et al., 2008, p.29)

La importancia de la obtención de colorantes naturales de los productos ecuatorianos a partir de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*), mora andina (*Rubus glaucus*), y uva (*Vitis vinífera*) es una alternativa para disminuir el uso de colorantes artificiales en la industria alimenticia.

El impacto de esta investigación va dirigido a la industria de alimentos y el principal beneficiario es el consumidor ya que el colorante es un ingrediente de todo alimento; pues el extraer colorantes naturales y usarlos en la elaboración de un alimento resulta de gran beneficio para la salud de quienes lo consumen.

Este estudio permite la obtención de colorantes naturales que pueden sustituir a los colorantes sintéticos y a la vez ayudan a la prevención y disminución de patologías que afecten al bienestar del ser humano, además es pertinente ya que la población tiene una alternativa para mejorar su calidad de vida por el consumo de alimentos con colorantes naturales obtenidos de los productos propios de nuestro país que son de fácil acceso y están al alcance de toda la población.

En cuanto a la tendencia académica, estos temas de investigación son escasos en nuestro país, razón por lo que se ve la necesidad de realizar la obtención de pigmentos naturales de diversos productos agrícolas comestibles del Ecuador, por el método de extracción con solvente con el equipo Soxhlet.

El colorante natural puede ser de utilidad para la aplicación en un producto alimenticio que cumpla con la normativa NT-INEN vigente como un yogur natural y esté apta para el consumo humano; es decir, se busca priorizar la salud del consumidor.

Antecedentes de la investigación

A nivel mundial, en la actualidad, el interés por las antocianinas se debe a los beneficios para la salud por la actividad antioxidante y su uso como colorante natural, este pigmento se encuentran presente en gran cantidad de vegetales, frutas y cereales; son las más importantes como pigmentos hidrosolubles, visibles al ojo humano, que manifiesta en colores intensos que abarcan el rojo hasta el azul. (Zapata et al., 2014, p.166)

Las ventajas que presentan los colorantes naturales de las antocianinas es como suplentes de colorantes sintéticos, con una buena alternativa para prevenir una gran cantidad de enfermedades a la población por el uso excesivo de alimentos procesados con colorantes artificiales. (Garzón et al., 2008a: p.27)

Diferentes investigaciones científicas sobre pigmentos antocianínicos se han incrementado en los últimos tiempos, debido a que las propiedades antioxidantes que presentan pueden reducir un sin número de enfermedades coronarias, cáncer, diabetes a más de su papel destacado como colorante. (Garzón, 2008b: p.29)

En América Latina se han realizado estudios como la obtención de un colorante natural alimentario de mora de castilla (*Rubus glaucus benth*), por el método de solvente con metanol, al pigmento extraído se lo caracterizó con técnicas instrumentales, finalmente el colorante natural fue aplicado a una leche, obteniendo como resultado que este colorante tiene un déficit de tintóreo en comparación con el colorante sintético E-127. (Ramírez, Rojas & Correa, 2006, p.129)

Otro ensayo fue la extracción del pigmento natural de la flor de Jamaica, mediante el método de extracción lixiviación, el colorante natural obtenido fue evaluado con la aplicación en un yogur y crema ácida, determinando que la cantidad de colorante natural es significativamente mayor a la

cantidad de un colorante artificial que se podría utilizar en el producto alimenticio. (Marin & Mejía, 2012, p.36)

Ensayos preliminares para la obtención de colorantes naturales a partir de especies vegetales comestibles, utilizaron frutos como la uva, fresa y mora mediante la extracción con solventes por Soxhlet y maceración, determinando que para la extracción de este tipo de compuestos el mejor es el equipo Soxhlet, posterior a ello aplicaron los colorantes naturales como aditivo en la elaboración de pan dando resultados un poder de tintóreo muy bueno el de la mora, en comparación al de la uva y fresa. (Castillo & Ramírez, 2006, p.42)

En el 2014, un artículo sobre la optimización de la extracción de antocianinas de arándanos, tuvo como objetivo conocer la variabilidad del proceso de extracción para ello, se cuantifico mediante el método de pH diferencial y uso de espectrofotómetro UV-VIS obtuvieron una concentración de antocianinas de 879.0 ± 12.9 mg/100ml y usando el método de ABTS Y DPPH encontraron actividad antioxidante de 5730 ± 103 y 4872 ± 124 mg EAA/100ml. (Zapata et al., 2014, p.171)

Una investigación sobre la optimización para la extracción de antocianinas en *Vaccinium corymbosum* L. (Arándano); extrajeron estos pigmentos a diferentes concentración de etanol del 20 y 40 % a pH 2 y 4 a temperatura de 25, 75 y 90°C con el tiempo de 30, 60, 120 y 240 min y cuantificaron las mismas mediante el pH diferencial y como resultado obtuvieron que la extracción efectiva de antocianinas de los arándanos es etanol al 40%, pH 2 con temperatura de 75°C por 60 min con una concentración máxima de 2,377mg antocianinas /L solvente. (Burgos & Ibañez, 2015, p.18)

En el Ecuador se ha realizado investigaciones, sobre la extracción y uso de tres pigmentos naturales a partir de tomate de árbol (*Solanum betaceum*), mortiño (*Vaccinium mytillus*) y mora de castillo (*Rubus glaucus*) como una alternativa parcial o total de colorantes naturales para alimentos, su extracción fue con solventes como el etanol a 96% con ácido cítrico a una temperatura de 60°C, al final del estudio determinan que el colorante de mora puede tener un 75% de sustitución. (Cano, 2011, p.37)

Otro publicación realizado en el 2016 fue la extracción y uso del colorante natural de la flor de Jamaica (*Hibiscus Sabdariffa*) como alternativa para la elaboración de salchicha y yogur, su extracción lo realizaron por el método de solventes con el equipo Soxhlet, los parámetros analizados fueron el color, olor, sabor, textura, pH durante 21 días y determinan que el uso de este colorante natural es una excelente alternativa de sustitución a colorantes sintéticos. (Ordóñez & Saavedra, 2016, p.22)

OBJETIVOS

General

- Obtener colorantes naturales de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*), mora andina (*Rubus glaucus*) y uva (*Vitis vinifera*) para el uso en la industria de alimentos.

Específicos

- Ejecutar el análisis proximal de las materias primas (cálices de jamaica, fruto de mora andina, hollaje de uva).
- Realizar la extracción de los pigmentos de los productos en estudio, por el método con solventes (método Soxhlet).
- Determinar los parámetros físicos químicos y evaluar su calidad microbiológica de los colorantes extraídos.
- Aplicar los colorantes extraídos en un producto alimenticio elaborado (Yogur natural).

CAPÍTULO I

1 MARCO TEÓRICO

1.1 Fundamentación conceptual y teórica

1.1.1 Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*)

Pertenece a la familia de plantas Malvaceae que abarca alrededor de 250 géneros con 3929 especies distribuidas por todo el mundo especialmente en climas templados y cálidos. (Rondón, 2009, p.599). Siendo el género *Hibiscus* el más conocido dentro de este grupo de plantas herbáceas, arbustos, árboles. (Sánchez, 203, p.1).



Figura 1-1: *Hibiscus sabdariffa*

Fuente: (Urbina, 2009, p.8)

1.1.1.1 Descripción botánica

La Jamaica es un arbusto que alcanza de 1 a 3 metros de altura, su reproducción es por autofecundación, presenta tallos, peciolo en las hojas, sus flores generalmente crecen solas en las axilas de las hojas, los pétalos son amarillos y sus cálices rojos con 5 a 7 sépalos ovalolanceolados con un diámetro de 2 a 3 cm, es propia de climas secos, subtropicales, rocosos y matorrales. (Urbina, 2009a: p.4)

1.1.1.2 Clasificación taxonómica

Tabla 1-1: Clasificación taxonómica de *Hibiscus sabdariffa*

Orden:	Malvales
Familia:	Malváceae
Subfamilia:	Malvoideae
Género:	Hibiscus
Especie:	H. sabdariffa L.
Nombre Común:	Viñuela, Saril, Roselle, Cabitutu, Jamaica rosella, Jamaica sorrel, Rosa de Jamaica, Malva morada

Fuente: (Meza, 2012, p.12)

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

1.1.1.3 Ubicación geográfica

La flor de Jamaica tiene sus orígenes en África tropical, su producción se da en diferentes lugares como América central, América del sur, Asia y México; en este último lugar se dedican al cultivo de jamaica para su posterior industrialización a nivel nacional e internacional. En el Ecuador por las condiciones climáticas se le ubica en El Oro, Puyo, Tena. (Sumaya et al., 2014, p.108)

1.1.1.4 Usos de la flor de Jamaica

- Es considerada como flores medicinales utilizadas para perder peso, disminuir el malestar luego de haber consumido alcohol, estimulación de las funciones que cumplen el hígado como el riñón.
- En la industria de alimentos los cálices se utiliza para la fabricación de gelatinas, pastelería, jugos, refrescos y vinos.
- En la industria textil se utiliza las fibras que son sedosas y fuertes como el yute. (Urbina, 2009b: p.3)

1.1.2 *Mora andina (Rubus glaucus)*

Pertenece a la familia Rosaceae que abarca alrededor de 2000 especies y 100 géneros, incluye la mayor parte de especies frutales, ornamentales y recurso maderable; dentro de esta familia están hierbas, arbustos, árboles de altura mediana y grande. (Pérez et al., 2008, p.1)



Figura 2-1: *Rubus glaucus*

Fuente: (Instituto Nacional Investigación Agropecuaria, 2013)

1.1.2.1 Descripción botánica

La mora andina, llamada también mora de castilla es una planta en forma de arbusto formada por tallos verdes o verdes blanquecinos largos con espinas que pueden crecer hasta una altura de 3 metros, con un diámetro de 1 a 2 centímetros, con flores verdes con la parte posterior blanca. Las flores blancas dan origen a las bayas pequeña de 3 a 5 g, según su color se define su madurez verde fruto tierno, rojo fruto en estado de madurez y morado oscuro fruto totalmente maduro. (Escobar, 2011, p.12)

1.1.2.2 Clasificación Taxonómica

Tabla 2-1: Clasificación taxonómica de (*Rubus glaucus*)

Orden:	Rosae
Familia:	Rosaceae
Género:	Rubus
Nombre científico:	<i>Rubus glaucus</i> benth
Nombre Común:	Mora de castilla. Mora andina

Fuente: (Escobar, 2011, p.22)

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

1.1.2.3 Ubicación geográfica

El origen de este fruto es Centro y Sur América, principalmente en Colombia, Ecuador, México, Panamá, Honduras y Salvador especies con similitud se las puede encontrar en África su uso común es como fruta sola o acompañado de otros alimentos. (Alija, 2015a: p.18)

En el Ecuador la mora andina o llamada también mora de castilla está ubicada en el callejón interandino principalmente en las provincias de Tungurahua, Chimborazo, Bolívar, Cotopaxi, Carchi, Imbabura.(MAGAP, 2013, p.20)

1.1.2.4 Usos de la fruta de la mora andina

Uno de los pigmentos representativos de la mora andina son las antocianinas a la cual se le debe su color característico. Industrialmente sus pigmentos sirven como aditivo en la preparación de yogures, licores, batidos, helados, gelatinas, postres, mermeladas, jaleas y, a veces, zumos, vinos y confituras.(Alija, 2015b: p.22)

1.1.3 Uva (Vitis vinífera)

La uva pertenece a la familia de plantas Vitáceae está distribuida en las zonas generalmente de clima tropical, subtropical y el mediterráneo; tiene 12 géneros y alrededor de 700 especies. (Laguna, 2003a: p.47)



Figura 3-1: *Vitis vinífera*

Fuente: (Gómez, 2016, p.19)

1.1.3.1 Descripción botánica

La uva es una planta trepadora y robusta puede tener una altura de 30m de longitud cuando es cultivada debe ser podada para obtener un fruto grande y evitar un tamaño enorme de la planta, las flores tienden aparecer en mayo o junio de manera agrupada en forma de racimos, sus frutos al madurar son de color verde, negro azulado y rojos, jugosos, dulces y carnosos, es decir de color y olor muy agradables.(Laguna, 2003b: p.47)

Su flores se caracterizan por tener un olor agradable similar a un perfume con un cáliz en forma de planillo de color verde y su la corola tiene 5 pétalos; sus frutos son redondos con el epicarpio de colores muy característicos como el rosado, verde, violáceo sumamente oscuro que parece negro. (Hidalgo et al., 2016a: p.54)

1.1.3.2 Clasificación taxonómica

Tabla 3-1: Clasificación taxonómica de *Vitis vinífera*

Orden:	Vitales
Familia:	Vitáceas
Reino:	Plantae
Nombre común:	Vid
Nombre científico:	<i>Vitis vinífera</i>

Fuente: (Asensio, 2000, p.15)

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

1.1.3.3 Usos de la uva

La uva se consume de manera fresca o seca, es emplea en la elaboración de vinos y licores. De las semillas se extrae el aceite, la piel u hollejo de la uva contiene una gran cantidad de aromáticos, usados en los vinos y colorantes naturales, en la pulpa se encuentra agua y azúcares usados en la fermentación.(Hidalgo et al., 2016b: p.55)

1.1.4 Composición nutricional de los alimentos

La composición nutricional de los alimentos permite conocer, el valor energético y la cantidad de nutrientes que componen a cada producto. Según la base de datos internacionales de composición de los alimentos de 2017, esta cantidad de nutrientes se puede encontrar por cada 100 gramos.

Tabla 4-1: Composición nutricional de los productos agrícolas en estudio

Composición	Unidad de medición	Jamaica	Mora	Uva
Humedad	g	86,5	84.2	80.5
Proteínas	g	17,4	1,4	0.50
Extracto etéreo	g	2,1	0,7	0.50
Carbohidratos totales	g	65,5	13.2	0.50
Fibra	g	8,5	5,3	1,60
Cenizas	g	6,5	0,5	0,4
Calcio	mg	215	38	16
Fósforo	mg	37	40	23
Hierro	mg	1,48	2.2	1,2
Tiamina	mg	0,011	0,01	0.05
Rivoflamina	mg	0,028	0.03	-
Niacina	mg	0,31	0,58	0.01
Vitamina C	mg	63,5	0.17	4

Fuente: FUNIBER, 2017 (Base de datos Internacional de Composición de Alimentos)

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

1.1.5 Colorante

Sustancia o mezcla de compuestos que tiene la capacidad de otorgar color a los alimentos a los cuales se les aplica (Ministerio de Salud, 1985, p.1)

Los colorantes son compuestos químicos que pueden ser sintéticos/químicos, ya sean elaborados dentro de un laboratorio químico o extraído de los vegetales que se caracterizan por dar color a estos; se los conoce también como pigmentos que se encuentran en las células y tejidos de los animales. (Sing, 1997, p.20)

1.1.5.1 Colorante Natural

Sustancia extraída de material vegetal o animal, que mediante métodos tecnológicos se aísla el principio colorante. (Ministerio de Salud, 1985a: p.1)

1.1.5.2 Colorante Sintético

Sustancia colorante que no se obtiene de fuentes naturales sino por síntesis orgánica. (Ministerio de Salud, 1985b: p.1)

1.1.5.3 Aditivo alimentario

Sustancia natural o artificial que es añadida al alimento intencionalmente con la finalidad de mejorar el producto alimenticio desde cualquiera de sus fases de procesamiento, que no se lo consume como alimento ni es un ingrediente básico del mismo. (NTE INEN, 2013, p.2)

1.1.5.4 Pigmentos

Sustancias de origen natural que dan color, que se encuentran en gran cantidad de organismos vivos de la naturaleza. (Delgado & Paredes, 2002, p.29)

1.1.5.5 Antocianinas

Pigmentos vegetales más representativos e hidrosolubles que incluye los colores rojos hasta el azul, comúnmente se los encuentra en raíz, tallos, hojas, flores y frutos, en las plantas son un atractivo para la polinización, protege de la luz solar, contaminación microbiana y viral. (Castañeda & Guerrero, 2015, p.27)

1.1.6 Clasificación de colorantes

La Ley Federal de Alimentos, Medicamentos y Cosmética divide a los colorantes en dos clases: sintéticos y naturales.

1.1.6.1 Colorantes sintéticos

Conocidos también como colorantes sujetos a certificación son un tipo de colorante originarios del petróleo o colorantes orgánicos sintéticos, requieren de un documento que los certifique para ser utilizados en la elaboración de alimentos, drogas y cosméticos; estos tienden a ser identificados por la numeración que se les da, la característica sobresaliente de estos colorantes es la solubilidad en agua. (Sánchez, 2013a: p.233)

1.1.6.2 Colorantes naturales

Conocidos también como colorantes exentos de certificación se los consigue principalmente de fuentes minerales, vegetales y animales; estos se caracterizan porque no requieren de un documento de certificación para lotes, pero en caso de ser utilizados para la elaboración de cosméticos y alimentos deben cumplir con ciertas especificaciones, usos y restricciones. (Sánchez, 2013b: p.235)

1.1.7 Tipo de pigmentos vegetales

1.1.7.1 Clorofílicos

Son los pigmentos mayoritarios de la naturaleza se localizan en los cloroplastos de las plantas, su función principal es la fotosíntesis, es responsable del color verde característico de las plantas, por lo general este pigmento sobreabunda en las hortalizas. Su estructura consta de una porfirina que tiene unido a un magnesio en el eje del núcleo tetrapirrólico. (Abbayes, Ferré & Gausson, 1989, p.135)

1.1.7.2 Carotenoides

Pigmentos asociados a la clorofila derivados del isopreno, se clasifican en: xantofilas, caroteno y licopeno son los que dan los colores rojo, anaranjado y amarillo. En su estructura química estos pigmentos contienen dobles enlaces insaturados, los xantofilas se caracterizan porque en su estructura tienen átomos de oxígeno, mientras que el resto de carotenoides no. (Aranceta et al., 2006a, p.17)

1.1.7.3 Antociánicos

Este tipo de pigmentos están presente más en frutas que en hortalizas y verduras pueden ser de rojos, azules y púrpuras. La función de este pigmento en las plantas es la protección solar y atraer insectos polinizadores; su característica principal es que son hidrosoluble, en su estructura química son los glucósidos que contienen antocianidinas procedentes del catión flavilio (2-fenilbenzopiridilo). (Aranceta et al., 2006b, p.21)

1.1.7.4 Flavonoides

Dentro de los flavonoides podemos encontrar a los flavonoles, catequinas y las antocianinas son las encargadas de dar el color a las frutas, los más comunes son la quercetina, miricetina kaempferol. Se caracterizan por ser polifenoles solubles en agua.(Abbayes, Ferré & Gausson, 1989a: p.135)

1.1.7.5 Betalaínicos

Son colorantes naturales formadas por alrededor de 70 tipos de pigmentos hidrosolubles, este grupo se puede clasificar las betaxantinas y betacianinas siendo estas de color rojo o violeta. (Abbayes, Ferré & Gausson, 1989b: p.138)

1.1.8 Clasificación de los pigmentos naturales

Los pigmentos naturales son aquella que se pueden obtener de la materia viva. Se los puede clasificar de acuerdo a su estructura molecular en: flavonoides, carotenoides, antocianinas y betalaínas; indiginoides, derivados del indol, tetrapirroles y pirimidinas; porfirinas; quinónicos curcumina y cuercuminoides. (Gibaja, 1998, p.75)

Tabla 5-1: Clasificación de colorantes naturales según su solubilidad

Colorantes Naturales Hidrosolubles	Colorantes Naturales Liposolubles	Minerales
<ul style="list-style-type: none">• Curcumina• Cochinilla o ác. carmínico• Riboflavina, lactoflavina• Caramelo• Antocianos• Betanina o rojo remolacha	<ul style="list-style-type: none">• Clorofila• Xantofilas• Carotenoides	<ul style="list-style-type: none">• Carbón vegetal• Dióxido de titanio• Aluminio• Oro• Carbonato cálcico• Óxido e hidróxido de hierro.• Plata

Fuente: (Sánchez, 2013, pp.242-245)

Elaborado por: Amarilis Llamuca, 2018

Tabla 6-1: Clasificación de colorantes naturales según su naturaleza química

Naturaleza química	Ejemplos	Color predominante	λ_{max}, nm
Tetrapirroles	Ficobilinas	Azul- verde	610- 650
	Clorofilas	Verde	640-660
Carotenoides	Carotenoides	Amarillo- Anaranjado	400-500
Flavonoides	Flavonas	Blanco-Crema	310-350
	Flavonoles	Amarillo- Blanco	330-360
	Chalconas	Amarillo	340-390
	Auronas	Amarillo	380-430
	Antocianinas	Rojo- Azul	480-550
Xantonas	Xantonas	Amarillo	340-400
Quinonas	Naftoquinonas	Rojo-Azul-Verde	420-460
	Antraquinonas	Rojo-Purpura	
Indoles	Indigo	Azul- Rosado	470-485
	Betalainas	Amarillo- Rojo	

Fuente: (Sing, 1997, pp.73-74)

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

1.1.9 Antocianinas

Pigmentos vegetales más representativos e hidrosolubles que incluye los colores rojos hasta el azul, comúnmente se los encuentra en raíz, tallos, hojas, flores y frutos, en las plantas son un atractivo para la polinización, protege de la luz solar, contaminación microbiana y viral. (Castañeda & Guerrero, 2015, p.27)

Los pigmentos naturales antocianinas son una subclase de flavonoides llamados también flavonoides azules, compuestos de origen vegetal no nitrogenados, que se encuentran distribuidos en gran parte de la naturaleza, sus colores característicos pueden ir desde incoloros hasta el púrpura. (Badui, 2006a: p.420)

1.1.9.1 Estructura de la antocianina

Está formada por la unión de grupo flavilo que es la antocianidina con la fracción de la azúcar forma las antocianinas, existen un promedio de 20 antocianidinas de origen vegetal. (Badui, 2006b: p.421)

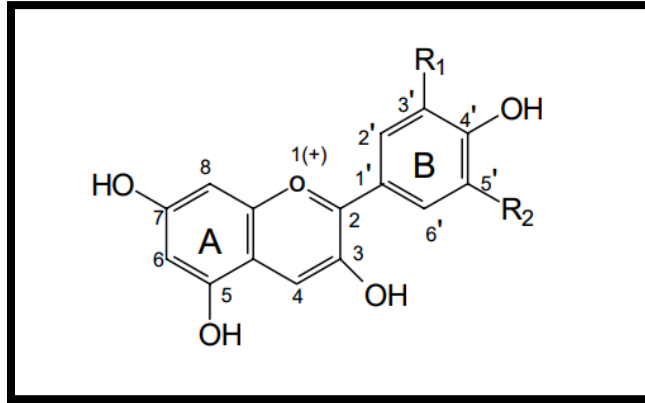


Figura 4-1: Estructura de antocianina

Fuente: (Badui, 2006, p.180)

Dependiendo de la sustitución de R1 y R2 en la estructura de la antocianina por el grupo H, OH, OCH₃, se conocen en la actualidad una variedad de antocianinas de origen vegetal comunes que son la pelargonidina, malvidina, delfinidina, peonidina, cianidina y petunidina, el enlace de estas con diferentes azúcares presentes en el medio ambiente pueden generar alrededor de 150 antocianinas. (Badui, Bourgues & Anzaldúa, 1990, p.388)

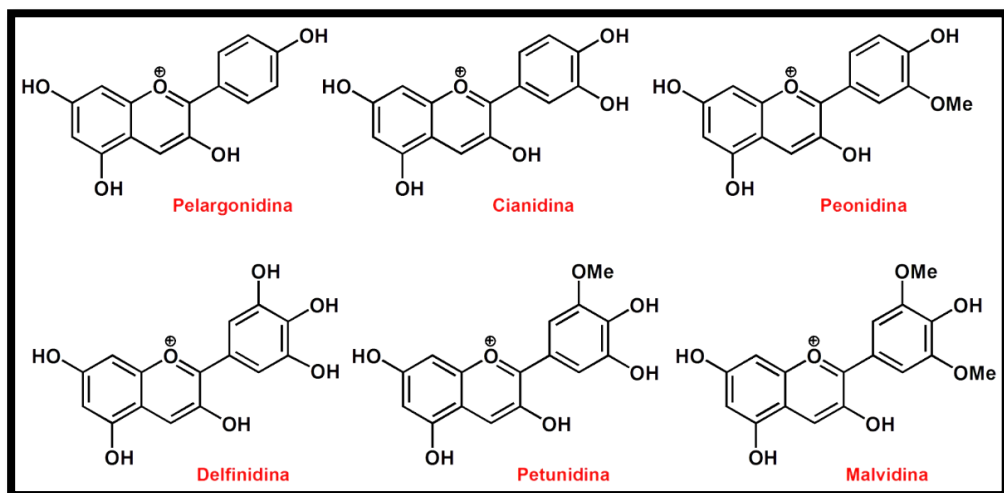


Figura 5-1: Estructura de las antocianinas vegetales más comunes

Fuente: (Espino, 2014, p.30)

1.1.9.2 Factores que afectan la estabilidad de las antocianinas

pH: las antocianinas muestran ser muy estables en medio ácido e inestables en medio neutro y alcalino, cuando esta se encuentra en medio ácido $\text{pH} < 4$ predomina el ion flavilio siendo notable los colores rojo intenso, mientras que cuando está en medio básico es susceptible al ataque nucleofílico por el agua, esto puede ocurrir a $\text{pH} = 4.5$ apareciendo el pseudobase carbinol posteriormente las chalconas que son incoloras y con $\text{pH} > 5$ tienden aparecer nuevamente una variedad de colores que van entre azules, verdes y amarillos. (Espino, 2014, p.10)

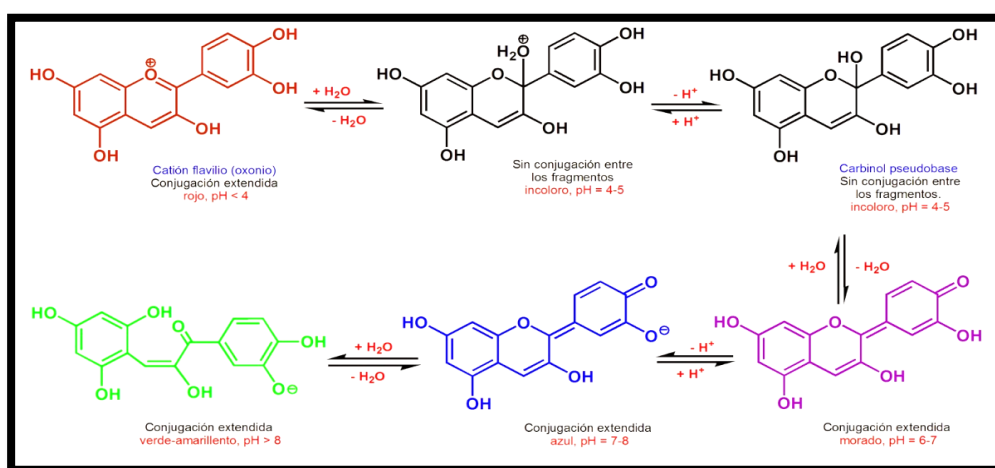


Figura 6-1: Transformación molecular de la cianidina en función del pH

Fuente: (Espino, 2014, p.38)

Temperatura: es uno de los factores que influyen en la estabilidad de las antocianinas, estas pueden ser abatidas con el calor durante el almacenamiento y procesamiento de los alimentos; al secar las soluciones de antocianinas a temperatura $> 100^\circ\text{C}$ se degrada el color y a temperatura $< 90^\circ\text{C}$ la degradación es mínima. (Badui, Bourgues & Anzaldúa, 1990, p.380)

Enzimas: las polifenoloxidasas, esterasas, peroxidas, glicolasas, degradan los compuestos fenólicos dando pigmentos de colores amarillos y café típico de un oscurecimiento causado por las enzimas que generalmente se debe a la rompimiento del anillo heterocíclico cuando existe el catecol generando o-quinona que oxida el pigmento. (Badui, 2006, p.424)

Luz y oxígeno: las antocianinas son inestables en la luz y tienden a ser más sensibles a la degradación fotoquímica; mientras que se oxidan fácilmente cuando estos se acompañan del ácido ascórbico. (Delgado & Paredes, 2002, p.185)

1.1.9.3 Propiedades funcionales de las Antocianinas

Las antocianinas es un amplio grupo de pigmentos hidrosolubles que se encuentra en el reino vegetal su interés crece por dos atributos. El primer atributo se debe al impacto sobre las características sensoriales de los alimentos, la segunda se debe a su implicación en la salud de los seres humanos. El incorporar las antocianinas como colorantes es una oportunidad de mejorar la apariencia total de un producto alimenticio y de cuidar nuestra salud. (Aguilera et al., 2011, p.11)

1.1.10 Importancia del color en los alimentos

El color es unos de los parámetros más importantes en la industria de alimentos, resulta ser una índice de calidad, como puede alertar cuando un producto está deteriorado, o ha sufrido algún tipo de cambio en su composición, así como también puede ser un indicativo de su aporte nutricional, e indica y anticipa otras compensaciones como el olor y sabor. (Moreno, 2016, p.7)

1.1.11 Toxicología de colores exentos de certificación

Los colorantes exentos de certificación son los de origen natural, estudios mencionan que estos no son genotóxico y experimentos con ratas y en vitro; con microorganismos intestinales, han de mostrado que no hay metabolitos de cloruro de cianidina que sean perjudiciales. Mientras tanto la pelargonidina se puede descomponer en ácido láctico p-hidroxifenilico y en otras ocasiones en floroglucinol, la malvidina produce metabolitos que pueden ser visibles en la orina, la cianidina y delfinidina no pauta actividad mutagénica. (Delgado & Paredes, 2002a: p.57)

El Comité mixto de la organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la Agricultura/ OMS/ de expertos en Aditivos Alimentarios, JECFA instituyó que el (IDA) la ingesta diaria admisible sea de 0 a 2.5 mg/Kg. Sin embargo el consumo de antocianinas de frutas y verduras superaría el consumo de como aditivo colorante. (Delgado y Paredes, 2002b: p.59)

Un estudio de toxicidad de las antocianinas de bayas que fueron administradas por vía oral a ratas, no causaron ningún daño con una aplicación de 6mg/kg peso corporal del animal por periodo de tiempo de 3 meses, posterior a ellos se les aplicó una dosis superior a 20mg/kg y no causó la muerte de ningún animal de experimentación a los que se aplicó, tampoco se halló efectos teratógenos en la aplicación a tres descendencias de ratones, ratas y conejos. (Toledo De Oliveira et al., 2004, pp.13-14)

1.1.12 Uso de los colorantes

Los colorantes son usados comúnmente en la industria de alimentos, medicamentos y cosmética para dar color en la elaboración generalmente de diferentes productos y variedades procedentes de estas industrias.(Contento, 1997a: p.85)

Los colorantes alimentarios cumplen un papel fundamental al ser una de las características sensoriales por la que se califica a los alimentos debido a que el sabor, olor y textura están directamente relacionados con el color. (Contento, 1997b: p.94)

1.1.13 Extracción de pigmentos

La extracción es una operación fundamental dentro de un laboratorio, considerada como un método útil para separar compuesto de interés, existen diferentes tipos de materia de los cuales se pueden extraer sólido-líquido, líquido-líquido, gas-líquido. Siendo la más usada la extracción sólido-líquido con el equipo Soxhlet. (Kuklinski, 2003a: p.27)

1.1.13.1 Extracción por Soxhlet

Método utilizado para la obtención de compuestos de interés, que consiste en poner en contacto el vegetal con el disolvente que solubiliza los principios activos, posterior a ello se puede concentrar y eliminar mayor o menor cantidad de disolvente utilizado. (Kuklinski, 2003b: p.33)

Las ventajas del uso de este equipo, es la excelente difusividad de los principios activos en el fluido y la solvatación del fluido supercrítico por lo que este método se considera excelente para la extracción con disolventes líquidos. (Hernández, 2013, p.8)

Uno de los solventes más común para la extracción es el etanol que actúa de manera directa con la capa lipídica de los vegetales por lo tanto modifica, el área y el espesor de la capa fenómeno, que incrementa la fluidez de la membrana aumentando la permeabilidad de la bicapa lipídica a las moléculas polares, además no es tóxico para la salud. (Nguyen et al., 2018, p.277)

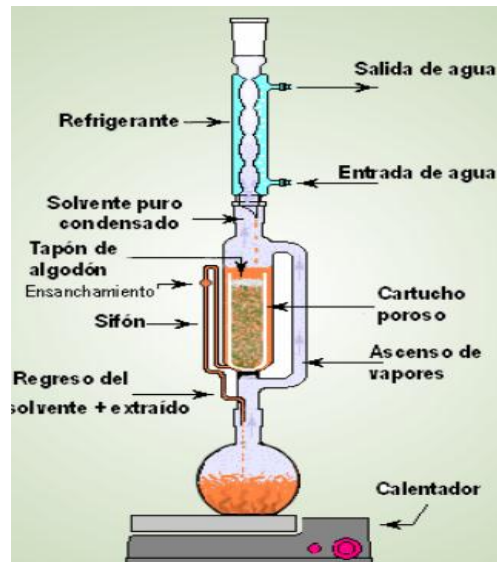


Figura 7-1: Extractor Soxhlet

Fuente: Núñez, 2008

1.1.13.2 *Etapas de la extracción con Soxhlet*

El equipo Soxhlet realiza un sínfin de extracciones de modo automática, con el solvente que se evapora y condensa llegando siempre pura al material, para ello se fundamenta en las siguientes etapas:

- 1) Previo a la extracción, el equipo debe estar armado y contener la muestra, entonces ubicar el solvente en el balón.
- 2) Encender el reverbero para producir la ebullición del solvente que se evapora hasta un condensador.
- 3) El condensado cae sobre un recipiente que sujeta el dedal con la muestra.
- 4) El nivel del solvente sube cubriendo el dedal hasta un punto en que se produce el reflujó el cual vuelve con el solvente y el material extraído al balón.
- 5) Este proceso se repite cuantas veces sea necesario hasta que la muestra quede consumida. El material extraído o principio activo se ira concentrando en el balón que contiene el solvente. (Núñez, 2008, p.3)

1.1.13.3 *Ventajas de extractor Soxhlet*

- Permite trabajar a bajas temperaturas.
- Protege del oxígeno, por ende evita la oxidación de la materia.
- Permite el control y condiciones de extracción
- Rapidez de extracción en comparación con otros métodos como la maceración. (Hernández, 2013, p.3)

1.1.14 Selección y acondicionamiento del material vegetal

1.1.14.1 Selección

Previo a todos los diferentes análisis se realizó la selección de los productos vegetales: jamaica, mora y uva; que estuvieron en condiciones óptimas, de los cuales se obtuvo la materia prima cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*), fruto de mora andina (*Rubus glaucus*), hollejo de uva (*Vitis vinífera*) para su posterior uso.

1.1.14.2 Proceso de Limpieza

Una vez clasificado los productos a utilizar, se realizó una limpieza con agua de grifo y agua destilada para eliminar el polvo, microbios y sustancias orgánicas e insectos.

1.1.14.3 Proceso de Secado

Para el secado de la materia prima de los productos vegetales se requirió de 484g de cálices de jamaica fresca para obtener los 50g de materia seca, 389g de fruto de mora andina para obtener 50g de materia seca y en el caso de la uva se necesita de 257g de hollejo de uva fresca para obtener los 50g de materia seca, posteriormente se procedió al fraccionamiento de los cálices de la jamaica y el fruto de mora andina, los hollejos se obtuvieron de manera entera de la uva para evitar su pérdida, se colocó papel aluminio en la bandeja y sobre ella el material a secar en un secador de bandeja tipo armario eléctrico a temperatura de 45°C por un lapso de tiempo de 8 horas para el hollejo, 12 horas para los cálices y 24 horas para el fruto de mora andina.

1.1.15 Análisis proximal

Previo a la realización del análisis proximal se realizó la tarada de los materiales que se necesitaron, en este caso fue cápsulas y crisoles, a estos materiales se les lavó y secó para la toma de un peso inicial, se dejó por 3 horas en la estufa de aire caliente a 105°C; transcurrido este tiempo se les colocó por 15 minutos en el desecador y se tomó peso por el lapso de una 1 hora y luego cada 30 minutos hasta tener un peso constante.

1.1.15.1 Método de desecación en estufa de aire caliente

Se pesó 5 gramos de la muestra, se colocó en cápsula de porcelana previamente tarada. Se colocó en la estufa de aire caliente a temperatura de 102°C ± 3°C por un lapso de 2 a 3 horas, hasta lograr

un peso constante, este proceso se lo hizo de manera individual por cada muestra. (Lucero, 2013, p.15)

Se dejó enfriar el desecador hasta temperatura ambiente y se tomó pesos en intervalos de tiempo hasta alcanzar el peso constante. Para la determinación de humedad se utilizó la siguiente formula:

$$SS(\%) = \frac{w_2 - w}{w_1 - w} 100 \quad \text{Ecuación 1}$$

$$\% \text{Humedad} = 100 - SS(\%) \quad \text{Ecuación 2}$$

SS= Sustancia seca en porcentaje en masa

w= masa de cápsula en gramos

w1= masa de cápsula con la muestra en gramos

w2= masa de la cápsula con la muestra después del calentamiento en gramos

1.1.15.2 *Método de incineración en mufla*

Se pesó 5 gramos de la muestra, se colocó en el crisol de porcelana previamente tarada se tomó el peso del crisol con la muestra, posteriormente se procedió a incinerar la muestra, una vez incinerada la muestra se colocó en la mufla a temperatura de $505^{\circ}\text{C} \pm 25^{\circ}\text{C}$ por un lapso de 2 a 3 horas, hasta lograr un peso constante, este proceso se lo hizo de manera individual por cada muestra. (Lucero, 2003, p.17)

Se dejó enfriar el desecador hasta temperatura ambiente y se tomó pesos en intervalos de tiempo hasta alcanzar un peso constante. Para la determinación de ceniza se utilizó la siguiente formula:

$$\%C = \frac{w_1 - w}{w_2 - w} 100 \quad \text{Ecuación 3}$$

%C= contenido de cenizas en porcentaje de masa

m= masa de cápsula vacía en gramos

m1= masa de la cápsula con la muestra después de la incineración en gramos

m2= masa de la cápsula con la muestra antes de la incineración en gramos.

1.1.15.3 *Preparación del solvente*

Para la preparación del solvente se utilizó la siguiente formula:

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2 \quad \text{Ecuación 4}$$

C1: Concentración en la que está el etanol
 C2: Concentración que se desea preparar
 V1: Volumen que se desea conocer de etanol
 V2: Volumen que se desea preparar

$$C1 * V1 = C2 * V2$$

$$96\% * V1 = 90\% * 400ml$$

$$V1 = \frac{90\% * 400ml}{96\%} = 375 \text{ ml de etanol}$$

$$Vagua = 400ml - V1$$

$$Vagua 400ml - 375ml = 25 \text{ ml de agua destilada}$$

1.1.15.4 Preparación del ácido cítrico

De acuerdo al protocolo:

$$\text{Ácido Cítrico} = \frac{\text{g ác.cítrico} * \text{mL de solvente a preparar}}{100\text{mL}}$$

Ecuación 5

$$\text{Ácido Cítrico} = \frac{0.03\text{g} * 400 \text{ mL}}{100\text{mL}}$$

$$\text{Ácido Cítrico} = 0.12 \text{ g}$$

1.1.16 Métodos de identificación

1.1.16.1 Espectrofotometría UV. Visible

Esta técnica es parte de los métodos instrumentales que tiene como fundamento la medición de propiedades ópticas como producto de la relación con la materia, como la absorción y emisión de luz. Es así como la absorbancia a una cierta longitud de onda, permite establecer la concentración de un analito si se contrasta con soluciones patrón conocidas; un espectrofotómetro de tipo de doble haz mide la relación de la intensidad de la luz en dos trayectos distintos, mientras que el de tipo haz simple mide la intensidad de la luz absoluta. (Millán, 2016, p.54)

Ampliamente usada en la química y las ciencias de la vida; útil para la identificación de compuesto de fenoles tipo flavonoides que tiende a 2 bandas de absorción en particular, la banda del (anillo aromático A) banda benzoil a 240-285 nm y la banda del (anillo aromático B) banda cinamoil con una absorción de 300-550nm. (Del Socorro et al., 2011, p.68)

1.1.16.2 Espectroscopia de Infrarrojo

En la actualidad es un método analítico muy empleado en la industria de alimentos, ambiental, medicina, biotecnología, ciencias forenses. Este equipo mediante la relación de la materia y el infrarrojo nos da un espectro infrarrojo, es decir una gráfica de picos acorde a cierta longitud de onda con la intensidad de absorción; cada pico es un tipo de vibración y de acuerdo a ello se podrá identificar el grupo funcional de la muestra analizada. (Mondragón, 2017, pp.35-38)

La ventaja que presenta el uso de este equipo es que requiere de una mínima cantidad de muestra para el análisis por lo que también se ahorra reactivos de alto costo, no genera residuos que contaminen el medio ambiente por lo que se le considera como tecnología limpia. En la industria de alimentos estos métodos analíticos facilitan la validación de la calidad de los alimentos para consumo humano. (Valenciaga & Simoes, 2016, p.265)

CAPÍTULO II

2 MARCO METODOLÓGICO

2.1 Lugar de Investigación

La investigación se realizó en los laboratorios de Bromatología, Investigación, Procesos Industriales y Productos Naturales de la Facultad de Ciencias Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2.2 Tipo y diseño de investigación

Esta investigación tiene un diseño descriptivo por el detalle de la obtención de pigmentos naturales presentes en la jamaica, mora y uva; mediante un método de extracción con Soxhlet, y aplicado en un yogur natural.

Es de tipo cualitativo y cuantitativo ya que se efectuaron análisis de laboratorio y experimentos para la extracción de colorantes los cuales otorgan resultados que permitieron establecer parámetros de procesamiento para este estudio.

2.3 Unidad de análisis

Las unidades de análisis con las que se trabajó son los colorantes naturales extraídos de los cálices de *Hibiscus sabdariffa*, fruto de *Rubus glaucus* y hollejo de *Vitis vinífera*.

2.4 Población de estudio

Cálices de *Hibiscus sabdariffa*, fruto de *Rubus glaucus* y hollejo de *Vitis vinífera*.

2.5 Tamaño de muestra

Para esta investigación se utilizó el muestreo aleatorio simple, con el cual se obtuvo aproximadamente un tamaño mínimo de 1kg de cada uno de los productos según lo indica la Normativa NTE INEN 1750.

2.6 Adquisición del material vegetal

El material vegetal que se utilizó para este estudio fue adquirido en el Mercado Mayorista San Pedro de Riobamba, del cantón Riobamba, provincia de Chimborazo.

2.7 Selección de la muestra

La selección se lo hizo de forma manual y a conveniencia con las mejores características del producto, es decir, se utilizó aquellos que estuvieron sanos, maduros, sin picaduras de insectos y sin golpes.

2.8 Materiales, equipos y reactivos

Tabla 1-2: Lista de materiales de protección y vegetal

Material de protección	Material vegetal
Mandil	Cálices de <i>Hibiscus sabdariffa</i>
Cofea	Fruto de <i>Rubus glaucus</i>
Guantes	Hollejo de <i>Vitis vinífera</i> .
Mascarilla	-

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

Tabla 2-2: Lista de materiales utilizados en los diferentes procedimientos

Proceso	Material
Análisis Proximal	Cápsulas
	Crisol
	Pinzas
	Guantes
	Cronómetro
Secado	Bandejas
Extracción	Balón de aforo de 1000ml
	Balón de aforo de 500ml
	Probeta 100ml
	Embudo
Concentrado	Balón de aforo de 500ml

Continuara...

(Continua) Lista de materiales utilizados en los diferentes procedimientos.

Ensayos Físico-químicos	Vasos de precipitación de 50 ml
	Vaso de precipitación de 100 ml
	Papel aluminio
Espectrofotometría UV-VIS	Balón de aforo de 100ml
	Balón de aforo de 50ml
	Pera
	Pipeta de 5ml
	Pizeta
Espectrofotometría Infrarrojo	Pizeta
Conservación	Envases ámbar

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

Tabla 3-2: Lista de equipos utilizados en los diferentes procedimientos

Proceso	Equipo
Análisis Proximal	Desecador
	Mufla
	Estufa
	Reverbero
	Balanza analítica
Secado	Secador en bandeja tipo armario
Extracción	Soxhlet
	Balanza analítica
	Alcoholímetro
Concentrado	Rotavapor
Ensayos Físico-químicos	pH-metro
	Refractómetro
	Balanza analítica
Espectrofotometría	Espectrofotometría UV-VIS
	Espectrofotometría Infrarrojo
Conservación	Congelador de 4 a 6 °C

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

Tabla 4-2: Lista de Reactivos utilizados en los procedimientos

Proceso	Reactivos
Extracción	Agua destilada
	Etanol
	Ácido cítrico
Ensayos fisicoquímicos	Agua destilada
Espectrofotometría	Agua destilada

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

2.9 Técnicas de recolección de datos

Para la recolección de datos esenciales para esta investigación se partió de los análisis bromatológicos de la materia prima, obteniéndose el porcentaje de humedad, ceniza, fibra y proteína, luego se procedió con la extracción del pigmento, para ello fue importante tener la materia prima de interés en las condiciones adecuadas, material vegetal fresco y seco; con los cuales se obtuvo datos cuantitativos del tiempo de extracción, número de reflujos y porcentaje de rendimiento de los colorantes.

Al continuar con los análisis de parámetros físico-químicos y microbiológicos del colorante se consiguió datos cuantitativos y al concluir el trabajo con la aplicación del colorante en un producto ya elaborado como es el yogur natural se obtuvo datos cualitativos y cuantitativos del control de pH y características organolépticas.

2.10 Técnicas y métodos

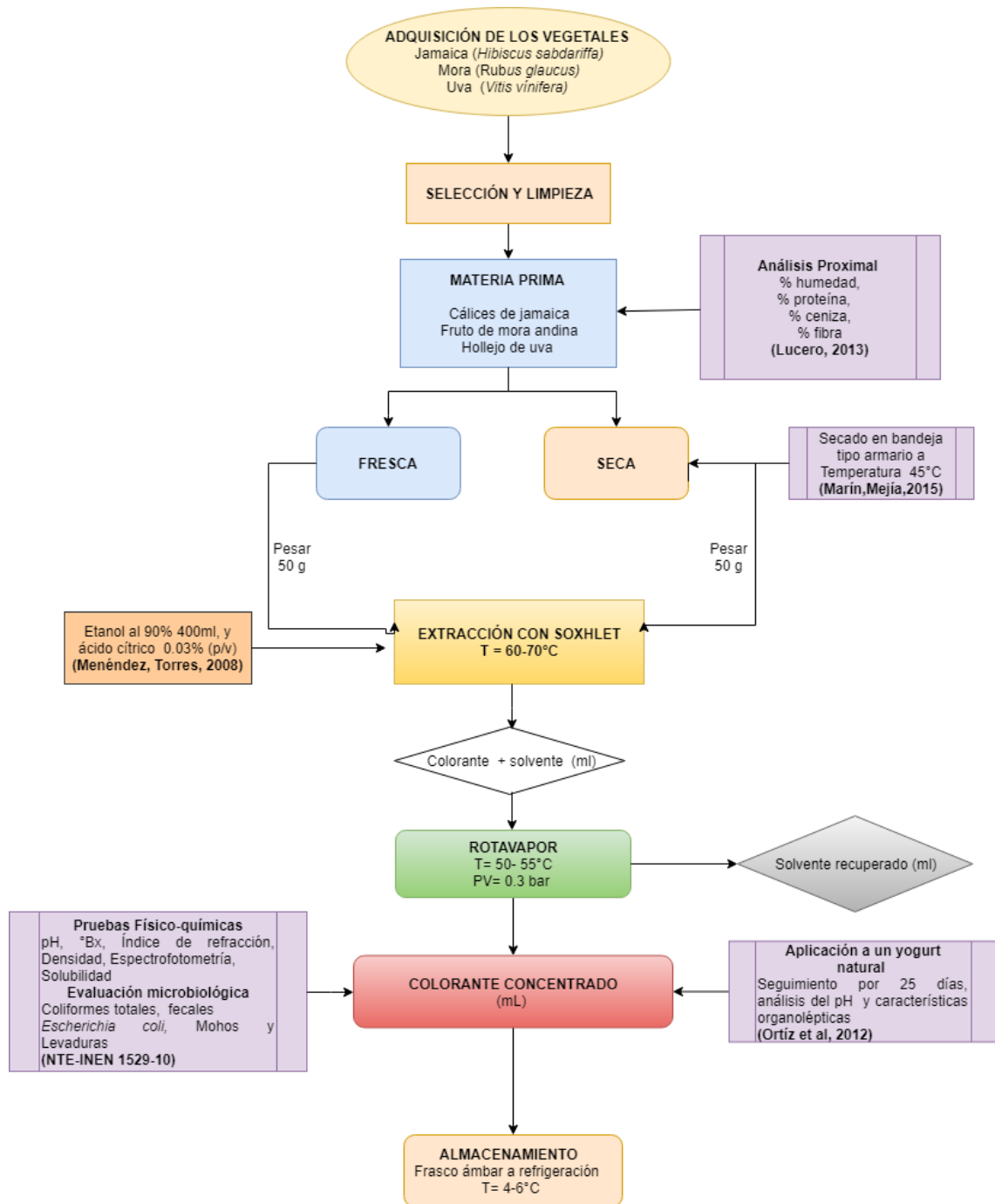


Figura 1-2: Diagrama de flujo de la extracción y estudio del colorante

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

2.11 Técnica de extracción por Soxhlet

Extracción por Soxhlet del colorante natural de los cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*), fruto de mora andina (*Rubus glaucus*) y hollejo de uva (*Vitis vinifera*) en materia fresca.

- Previo a la extracción se preparó 400ml del solvente de etanol al 90%, ácido cítrico al 0.03%.
- Se midió el pH de solvente con el que se va a trabajar.
- La materia prima (Cálices de *Hibiscus sabdariffa*, fruto de *Rubus glaucus*, hollejo de *Vitis vinifera*) se lava con agua destilada y se deja que se escurra.
- Se pesó 50g de la materia prima a utilizar y se colocó en el dedal de papel filtro previamente preparado.
- Se armó el equipo Soxhlet colocando 400ml de solvente en el balón, el dedal con la materia prima en la cámara de sifonación sobre este, el refrigerante y se conectó las mangueras a un grifo de agua.
- Al encender el reverbero se inició la extracción.
- Se tomó apuntes del número de reflujos y tiempo.

Extracción por Soxhlet del colorante natural de los cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*), fruto de mora andina (*Rubus glaucus*) y hollejo de uva (*Vitis vinifera*) en materia seca.

- Previo a la extracción se preparó el solvente de etanol al 90% y ácido cítrico al 0.03%.
- Se midió el pH de solvente con el que se va a trabajar.
- Se pesó 50g de la materia prima seca a utilizar (Cálices de *Hibiscus sabdariffa*, fruto de *Rubus glaucus*, hollejo de *Vitis vinifera*) y se colocó en el dedal de papel filtro previamente preparado.
- Se armó el equipo Soxhlet colocando 400ml de solvente en el balón, el dedal con la materia prima en la cámara de sifonación sobre este, el refrigerante y se conectó las mangueras a un grifo de agua.
- Al encender el reverbero se inició la extracción.
- Se tomó apuntes del número de reflujos y tiempo.

2.12 Técnica para la concentración del extracto

Se utilizó un Rotavapor Buchi 461 Water Bath a condiciones de $50 \pm 5^\circ \text{C}$ y una presión de vacío de 0.3 bar y RPM establecida en el equipo por un tiempo aproximado de 1 hora en la muestra de materia seca y 2 horas en las muestras de materia fresca, así este equipo permitió extraer la porción alcohólica (Solvente) que se encuentra en el extracto y la concentración del colorante (Antocianinas) extraídas con el equipo Soxhlet.

2.13 Análisis fisicoquímicos para el colorante natural

Tabla 5-2: Procedimiento para el análisis físico-químico del colorante

Parámetro	Procedimiento	Cálculo/ Reporte
Densidad: cantidad de masa en un determinado volumen	<ul style="list-style-type: none"> -Pesar el picnómetro vacío anteriormente lavado y seco. (Pp) -Llenar el picnómetro con agua destilada y pesar (xw) -Vaciar el picnómetro llenarlo con el colorante y pesarlo (xc) 	$d_c = \frac{P_c - P_p}{P_w - P_p} P_w$ <p> P_c: Densidad del colorante P_w: Densidad del agua x_p: Peso del picnómetro vacío x_c: Peso del picnómetro con el colorante. x_w: Peso del picnómetro con agua destilada. </p>
pH: permite conocer la acidez o alcalinidad de una solución	<ul style="list-style-type: none"> -Lavar el electrodo con agua destilada. - En un vaso de 50 ml colocar unos 10ml del colorante. -Sumergir el electrodo. 	Tomar dato del valor que indica el pH-metro.
Solubilidad: capacidad del colorante en disolverse en un medio líquido	<ul style="list-style-type: none"> -En un tubo añadir 10ml de agua destilada, agregar el 1ml de colorante natural. -Agitar -Observar con qué facilidad se desplaza en el líquido. 	Evaluar soluble e insoluble.

Continuara...

(Continua) Procedimiento para el análisis físico-químico del colorante

<p>Grados Brix: permite a determinar la concentración de sacarosa por 100 mililitros de una solución.</p>	<p>-Limpiar el refractómetro. -Poner 20 uL de la muestra.</p>	<p>Tomar datos del refractómetro.</p>
<p>Índice de refracción: Indica el comportamiento de la luz al atravesar la muestra.</p>	<p>-Limpiar el refractómetro. -Poner 20 uL de la muestra.</p>	<p>Tomar datos del refractómetro.</p>
<p>Espectrofotometría UV visible: La luz es absorbida por la muestra a una longitud de onda por con la cual permite determinar la concentración del analito.</p>	<p>-Encender el equipo. -Encerar el equipo con agua destilada. -Hacer un barrido con la muestra patrón y elegir la longitud de onda a la cual se realizara las mediciones. -Medir la absorbancia de cada una disoluciones de 5, 10, 15, 20, 25 ppm</p>	<p>Obtener datos del equipo posterior a ello calcular la concentración de antocianinas en los extractos</p>
<p>Espectrometría Infrarrojo: La luz es absorbida por la muestra a diferentes longitudes de onda permite determinar los grupos funcionales.</p>	<p>- Encender el equipo - Limpiar - Colocar una gota de muestra de colorante. - Tapar y poner iniciar.</p>	<p>Interpretar los espectros dados por el equipo.</p>

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

2.14 Pruebas microbiológicas

Para el análisis microbiológico las muestras de colorantes deben estar a temperatura ambiente, para que los microorganismos presentes en las muestras estén activos, caso contrario a temperaturas bajas cuando las muestras están en refrigeración, estos están de manera inactiva dificultando el crecimiento de los mismos en las placas de siembra, teniendo resultados no tan reales de la presencia o ausencia de unidades formadoras de colonias de las muestras analizadas.

Tabla 6-2: Procedimiento para el análisis microbiológico

Análisis	Procedimiento
Coliformes totales y fecales	<ul style="list-style-type: none"> • Limpiar con alcohol al 96% la cámara de humo Biobase y los frascos que contienen la muestra de colorante. • Encender por 5 minutos la luz ultravioleta. • Rotular los tubos donde se hará la dilución y en las placas. • Preparar una dilución 1:10 de colorante en agua peptona. • Homogenizar y dejar reposar por 30 minutos, proceder al sembrado • Colocar las placas petrifilm en un área plana, elevar la lámina semitransparente superior. • Con una pipeta pauster tomar 1.0 ml de la dilución y colocar en la mitad de la película cuadrangular inferior de la placa. • Con cuidado deslizar la lámina hacia abajo evitando atrapar burbujas de aire. • Poner a incubar a 37°C por un periodo de 24 horas. • Reporte de las colonias en UFC/ml
<i>Escherichia coli</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Limpiar con alcohol al 96 % la cámara de humo Biobase y los frascos que contienen la muestra de colorante. • Rotular los tubos donde se hará la dilución y en las placas. • Preparar una dilución 1:10 de colorante en agua peptona. • Homogenizar y dejar reposar por 30 minutos, proceder al sembrado • Colocar las placas CompactDry en un área plana, elevar la tapa superior. • Con una pipeta pauster tomar 1.0 ml de la dilución y colocar en la mitad de la placa inferior y tapar con cuidado. • Poner a incubar a 37°C por un periodo de 48 horas. • Reporte de las colonias en UFC/ml
Mohos y levaduras	<ul style="list-style-type: none"> • Preparar el medio de cultivo agar sabouround más cloranfenicol, esterilizar el medio, plaquear. • Limpiar con alcohol al 96 % la cámara de humo Biobase y los frascos que contienen la muestra de colorante. • Introducir dentro de la cámara los materiales, rotular los tubos donde se hará la dilución y en las cajas petri con el medio de cultivo. • Preparar una dilución 1:10 de colorante en agua peptona. • Homogenizar, proceder al sembrado • Tomar el tubo con la dilución, flamear y con la pipeta previamente esterilizada tomar 1.0 ml. • Colocar en la mitad de la caja con el cultivo la muestra 1.0 ml y con el asa de vidrio previamente esterilizada estriar y tapar con cuidado. • Poner a incubar a 37°C por un periodo de 48 horas. • Reporte de las colonias en UFC/ml.

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

2.15 Aplicación de colorante en un yogur natural

- Se probaron tres concentraciones, 0.5, 1.0, 1.5 ml de colorante de cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*), fruto de mora andina (*Rubus glaucus*) y hollejo de uva (*Vitis vinífera*) en 100 ml de yogur natural Toni cada uno, en base al estudio del colorante de higo aplicado a un yogur natural por (Ortiz, 2012)
- Se llevó el control de pH y características organolépticas de los yogures cada 5 días por un lapso de 25 días.
- Es importante mencionar que no existe ninguna normativa que indique la dosis máxima de aplicación de un colorante natural en un producto alimenticio; solamente se puede conocer que el reglamento 1333/2008 del Parlamento Europeo menciona que el colorante E-163 (Antocianina) en dosis máxima indica el termino Quasi salis que en español significa cantidad suficiente, o sino también escribe que la dosis es según las buenas prácticas de fabricación pero no indican un rango de valores que establezca una cantidad mínima o máxima.

CAPÍTULO III

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Resultados

3.1.1 Resultado del análisis proximal de las materias primas

Los parámetros evaluados en el análisis bromatológico proximal de las materias primas fueron: el porcentaje de humedad, que permite conocer la cantidad de agua con el método de estufa; la ceniza con el que se conoce la cantidad de materia inorgánica de los vegetales con la mufla; fibra con el método de Weende y proteína con el método de Kjeldhal respectivamente; ensayos útiles para conocer la composición cuantitativa nutricional de los vegetales en estudio.

Tabla 1-3: Análisis bromatológico proximal

Materia Prima	% HUMEDAD			% CENIZA			% FIBRA			% PROTEINA		
	P	T	% E	P	T	% E	P	T	% E	P	T	% E
Cálices de Jamaica	83.25	84.5	1.48	1.22	1.2	1.67	2.25	2.3	2.17	1.84	1.9	3.18
Fruto de mora	87.47	87.6	0.15	0.49	0.5	4.00	5.17	5.3	2.45	1.36	1.4	2.85
Hollejo de uva	78.89			0.27			0.88			0.23		

Nota: (P=Práctico; T= Teórico; % E= Porcentaje de error)

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

En la tabla el parámetro de humedad obtenido de manera experimental presenta diferencias en cada una de las materias primas, evidenciándose así que el fruto de mora (*Rubus glaucus*) con el 87.47% tiene un porcentaje alto, porque su componente principal es el agua que se encuentra en las partes internas de los componentes sólidos por fuerzas moleculares ; y el que menor cantidad de agua tiene es el hollejo de uva (*Vitis vinifera*) con 78.89% pues su estructura esta formada de membranas lipofílicas que tienden hacer impermeables agua, razón por lo que el porcentaje de humedad es bajo y tiempo de deterioro sera más lento. El contenido de humedad es un índice de calidad y estabilidad.

Con el porcentaje de ceniza se puede observar que las cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) con 1.22 % es superior, al ser un vegetal a este pudo estar adherido sustancias extrañas como arena los mismos que altas temperaturas no se deteriora, presentando mayor cantidad de materia inorgánica; mientras que el que menor tiene es el hollejo de uva (*Vitis vinifera*) con 0.27% esto se da porque en su composición tiene hidratos de carbono los mismos que se quemar a altas temperaturas y desaparecen.

En cuanto a fibra el que mayor porcentaje tiene es el fruto de mora andina (*Rubus glaucus*) con un valor de 5.17% esto se da por su contenido de hidratos de carbono y polisacáridos obtenido tras el tratamiento del fruto con ácidos y álcalis; mientras que el menor porcentaje es del hollejo de uva (*Vitis vinifera*) tiene 0.88% por su contenido de polifenoles que se degradan con ácidos.

Los valores de proteína presentados por los cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) es mayor que el resto de materias primas, pues este vegetal contiene en su composición una buena fuente de nutrientes, lo cual confirman estudios de Duke (1983) y Arévalo (2005) y el hollaje de uva (*Vitis vinifera*) con 0.23% es el que menor porcentaje de proteína tiene debido a que en su composición es rica en azúcares y polifenoles más no en proteínas que deben incluir en la dieta del ser humano.

Los porcentajes de error calculados se encuentran en un rango 0.15-4.00% muestra ser inferiores al 5%, pues los datos obtenidos de manera experimental están cercanos o son similares a los datos bibliográficos; cabe mencionar que el porcentaje de error del hollejo de uva no se lo puede calcular debido a que no existen un referencial bibliográfico, por lo que sería un ensayo preliminar el que se ha hecho en este estudio, para obtener los resultados indicados.

3.1.2 Resultado del número de reflujos y tiempo de extracción

La extracción mediante el método Soxhlet de cada uno de los colorantes se realizó con el mismo tratamiento de etanol al 90%, ácido cítrico 0.03% y 50 g de materia prima en fresco y seco; fue llevado a cabo para conocer cual requiere mayor tiempo de extracción.

Tabla 2-3: Resultado del número de reflujos vs el tiempo de extracción de cada colorante.

Número de Reflujo	Tiempo de extracción de cada colorante (minutos)					
	Colorante Mora Fresca	Colorante Mora Seca	Colorante Jamaica Fresca	Colorante Jamaica Seca	Colorante Uva Fresca	Colorante Uva Seca
1	56	92	122	115	135	143
2	69	102	132	118	145	154
3	50	108	128	133	124	125
4		90	115	139		
5		82		143		
6				121		
7				105		
Tiempo Total	175	474	497	873	404	422

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

De manera general se puede observar, que requieren de un mayor número de reflujos y tiempo de extracción los pigmentos en materia secas, como el caso de los colorante de los cálices de jamaica y fruto de mora andina, esto puede deberse a que al secar la materia prima se conservan y concentran mayormente los pigmentos, a excepción del hollejo de uva, pues esta materia prima al ser solo el hollejo las vacuolas donde se encuentran los pigmentos están encogidos y no tiene una cantidad significativa de antocianina, mostrando ser similar el tiempo y el número de reflujos para la extracción de estos colorantes. Además se observa que en el intermedio del número de reflujos, el tiempo tiende a incrementar esto se debe a que en los primeros reflujos son en las que mayor pigmentos se extrae por notable presencia de antocianinas.

Con respecto al tiempo total para la extracción de cada uno de los colorantes, se observa que el producto que mayor tiempo requiere para la extracción del colorante es la jamaica seca con 873 min, este vegetal muestra tener mayor cantidad de pigmentos los mismos que se concentran al ser deshidratados y a la vez se ve influenciado por el volumen que se pierde y para alcanzar la materia prima requerida ingresa mayor cantidad del vegetal; mientras que el de menor tiempo requerido es la mora fresca con 175 min esto se debe a que en su estado fresco su contenido de agua en la

materia prima favorece a la extracción de las antocianinas que tienden a ser lábiles e hidrosolubles.

3.1.3 Resultado del porcentaje de rendimiento de los colorantes

Este ensayo fue realizado luego de la extracción con el método Soxhlet, para lo cual se usó el equipo Rotavapor Wather 360 Bath, con el fin de obtener un colorante concentrado y recuperar el solvente utilizado.

Tabla 3-3: Rendimiento de la extracción de los colorantes naturales

Muestra	g materia prima	Solvente		Colorante		Solvente Recuperado	
		ml	%	ml	%	ml	%
Colorante Mora Fresca	50	400	100	47	11.75	271	67.75
Colorante Mora Seca				34	8.42	279	69.83
Colorante Jamaica Fresca				48	12.08	262	65.50
Colorante Jamaica Seca				41	10.25	222	55.58
Colorante Uva Fresca				37	9.25	242	60.42
Colorante Uva Seca				32	8.08	283	70.67

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

Los porcentajes de rendimiento de los colorantes concentrados fueron los siguientes: colorante de jamaica fresca 12.08%, mora fresca 11.75%, jamaica seca 10.25%, uva fresca 9.25%, mora seca 8.42% y uva seca 8.08%; porcentajes que se ven influenciados ya que las materias primas no están formados en su totalidad por el pigmento, sino que contiene componentes extras como fibra, proteína, hidratos de carbono, entre otros, que afectan los volúmenes obtenidos del pigmento; sin embargo existe diferencia entre ellos, respecto a la intensidad de color siendo mayor en la materia seca por la concentración de sus componentes y sus pH ácidos, por lo cual el pigmento está estable y predomina el ión flavilio con el color rojo, como lo menciona Espino, (2014).

En cuanto al solvente recuperado presentó los siguientes porcentajes: mora fresca 67.75%, jamaica fresca 65.50%, uva fresca 60.42 % y jamaica seca 55.58% y uva seca 70.67%, evidenciándose que el mayor porcentaje corresponde a la uva seca que por su déficit de pigmentos requiere menos tiempo y número de reflujos para su extracción, caso contrario a la jamaica seca que necesita mayor tiempo; por esta razón existe un incremento en la pérdida del solvente y sustancias volátiles en el proceso de extracción y concentración del colorante.

3.1.4 Resultado de los parámetros fisicoquímico de los colorantes naturales

Los parámetros evaluados en el análisis fisicoquímico de los colorantes fueron: pH, con el pH-metro que permitió detectar la acidez, neutralidad y alcalinidad de los colorantes; ° Bx para conocer la cantidad de azúcar y el índice de refracción para establecer la capacidad del paso de luz en la solución, en estos dos procesos se utilizó el refractómetro RA-60; la densidad con el método de picnómetro para demostrar la relación masa/volumen.

Tabla 4-3: Resultados de pH de los colorantes

pH			
Colorante	Fresco	Seco	Prueba t para varianzas
Mora	3.80	2.58	***
Jamaica	3.15	2.50	**
Uva	4.01	3.89	*

Nota: (***)= $p < 0.001$, (**)= $p < 0.01$, (*)= $p < 0.05$

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

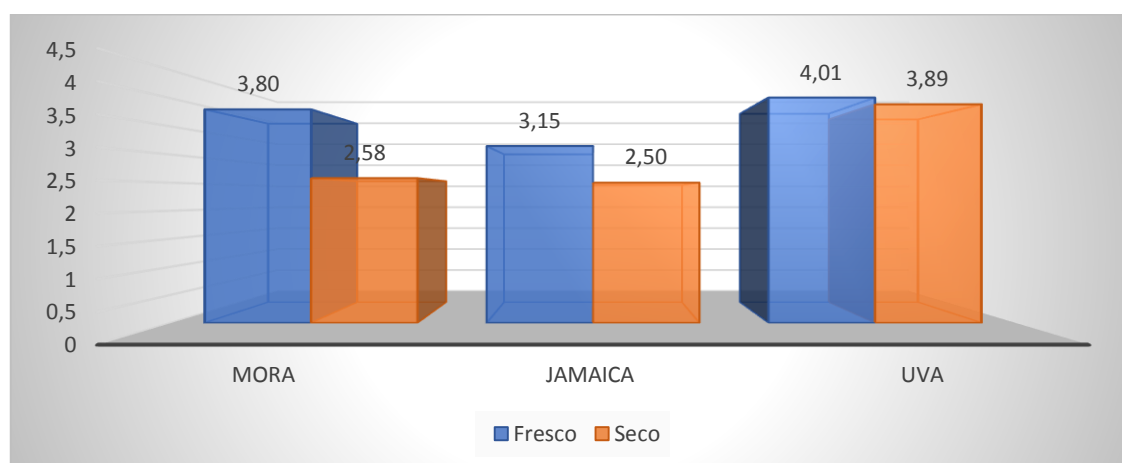


Gráfico 1-3: pH de los colorantes

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

Se evidencia que el pH 3.8 del colorante de mora fresco con el pH 2.58 de mora seca difieren significativamente al nivel $p < 0.001$; los pH 3.15 del colorante de jamaica fresca con el pH 2.50 de jamaica seca, al nivel $p < 0.01$; y, en el caso de los pH 4.01 del colorante de uva fresca con el pH 3.89 de uva seca, al nivel $p < 0.05$.

De manera general se puede evidenciar que los pH de los colorantes de materia seca tienden a ser más ácidos que los de materia fresca resultado de la deshidratación de la materia prima que concentra y conserva sus componentes, mientras que en el caso de los colorantes de materia fresca

sus pH tienden a ser débilmente ácidos, porque la cantidad de agua que contienen ocasionan una hidrólisis de la molécula de antocianina disminuyendo la acidez y la intensidad del color.

Garzón (2008), menciona que la acidez ejerce un efecto protector sobre la molécula e inclusive en pH inferiores a 2 el 100% del pigmento está en su forma estable, mientras que Espino (2014) indica que a pH ácidos < 4 tiende a intensificarse el color y predomina el rojo. Con dicha información se puede decir que los pH obtenidos de los diferentes colorantes se encuentran dentro de un rango de pH ácidos, especialmente de los colorantes de materia prima seca, lo que indica que los pigmentos antocianinas son estables porque el ión flavilio está no ionizado y a pH ácidos esta estructura predomina.

Tabla 5-3: Resultados de los °Brix promedio de los colorantes

	° Bx		Prueba t para varianzas
	Fresco	Seca	
Mora	17.75	53.83	***
Jamaica	13.01	44.98	**
Uva	20.60	45.90	***

Nota: (***)= $p < 0.001$), (**= $p < 0.01$)

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

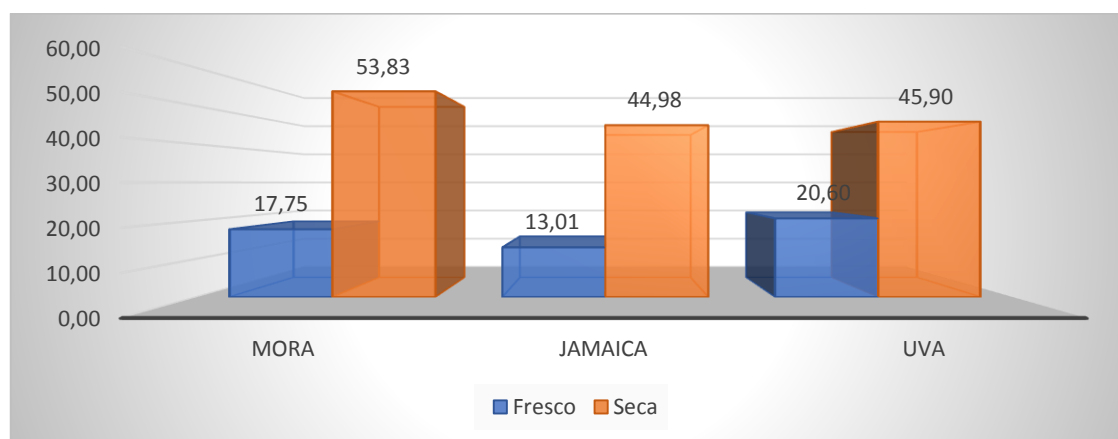


Gráfico 2-3: °Brix de los colorantes obtenidos

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

Los grados Brix 17.5 del colorante de mora fresca con los °Bx 53.83 de mora seca difieren significativamente al $p < 0.001$; los °Bx 13.01 del colorante de jamaica fresca con los °Bx 44.98 de jamaica seca difieren a nivel $p < 0.01$ y los °Bx 20.60 del colorante de uva fresca con los °Bx 45.90 de uva seca difieren al nivel de $p < 0.001$.

Con la comparación de todos los colorantes se puede determinar que el valor de los °Bx en materia seca son mayores, por la conservación de sólidos al deshidratar, mientras que en las muestras frescas es menor por el contenido de agua utilizada en la extracción lo que disminuye el porcentaje de azúcar en los colorantes. El valor de °Bx más alto es para el colorante de mora seca el cual puede ser influenciado por el estado de madurez en el que se encontraba la fruta, y el que menor °Bx presenta es el colorante de jamaica fresca que por ser un vegetal contiene agua que disminuye la cantidad de azúcar.

Tabla 6-3: Resultados del Índice de refracción de los colorantes

Colorante	Índice de Refracción		Prueba t para varianzas
	Fresco	Seca	
Mora	1.3580	1.4310	***
Jamaica	1.3522	1.4107	**
Uva	1.3651	1.4046	**

Nota: (***) = $p < 0.001$, (**) = $p < 0.01$

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

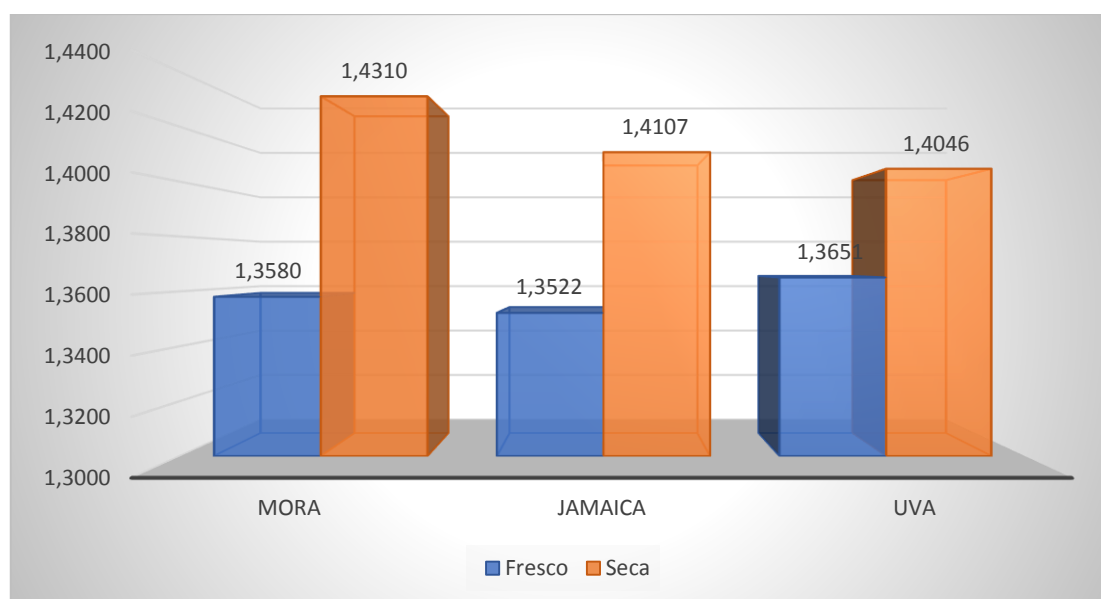


Gráfico 3-3: Índice de refracción de los colorantes

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

El índice de refracción de los colorantes de mora fresca y seca, 1.3580 y 1.4310 respectivamente, difieren significativamente al nivel $p < 0.001$; en el caso de la jamaica fresca y seca sus índices son 1.3522 y 1.4107 y varían al nivel de $p < 0.01$; para los colorantes de uva fresca y seca los índices son 1.3651 y 1.4046 para una variación al nivel $p < 0.01$.

Se puede observar que el índice de refracción de los colorantes es mayor en las materias secas porque a mayor cantidad de azúcar ($^{\circ}\text{Bx}$) mayor es el índice de refracción como lo demuestra el colorante de mora seca con un índice de 1.4310 debido a que este fruto tiene ácido oxálico o málico que influye en este parámetro incrementando su valor, y el colorante de jamaica fresca con un valor de 1.3522 es el de menor índice ya que al ser un vegetal no contiene azúcares.

Tabla 7-3: Resultados de la densidad de los colorantes

Colorante	Densidad g/ml		Prueba t para varianzas
	Fresco	Seca	
Mora	0.9890	1.1561	*
Jamaica	0.9879	1.0435	NS
Uva	0.9645	1.0692	NS

Nota: (*= $p < 0.05$); (NS= $p > 0.05$)

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

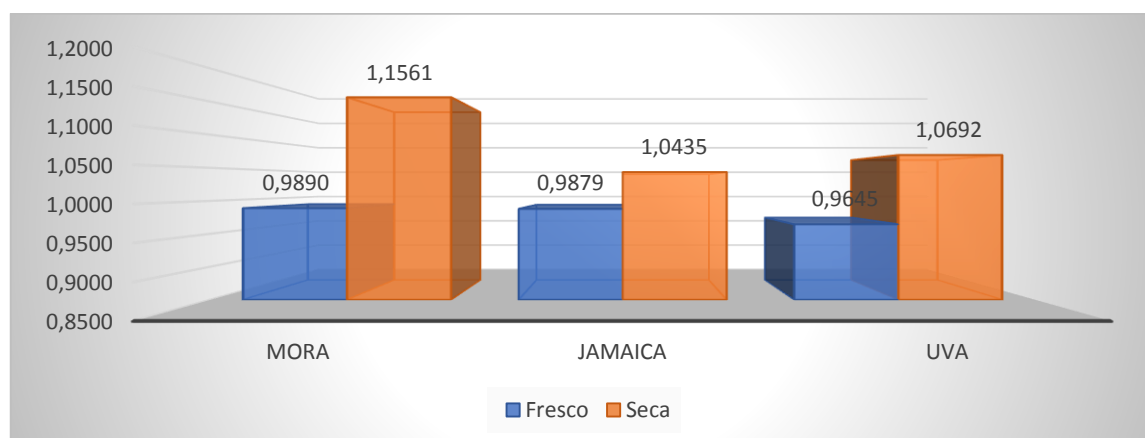


Gráfico 4-3: Densidad de los colorantes

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

Como se puede observar las densidades (ρ) de los colorantes de mora fresca y seca 0.9890 g/ml y 1.1561g/ml, respectivamente, tienen diferencia significativa al nivel de $p < 0.05$; en el caso del colorante de jamaica fresca y seca no muestran variación significativa pues sus valores son 0.9879g/ml y 1.0435g/ml; caso similar con los colorantes de uva fresca y seca cuyos resultados, 0.9645 g/ml 1.0692 g/ml, no difieren entre ellos al nivel de $p > 0.05$.

Al igual que los grados brix influyen en el índice de refracción, estos afectan también la densidad, provocando que sea superior en la materia seca respecto a la materia fresca. Los resultados indican que el valor más alto es para el colorante de mora seca con $\rho = 1.1561\text{g/ml}$, pues esta fruta tiene un serie de componentes como azúcares (pectina), ácidos, minerales (calcio), vitaminas;

elementos que incrementan viscosidad al producto; la menor $\rho=0.9645$ g/ml fue para la uva fresca pues al ser solo el hollejo esta no presenta en su composición compuestos que aumenten su valor.

3.1.5 Resultado de la solubilidad de los colorantes naturales

Para evaluar este parámetro físico se aplicó en tubos de ensayo 9 ml de agua destilada y sobre este 1ml de colorante extraído e inmediatamente se procedió a una agitación de 1 a 3 minutos y se observó su solubilidad, ensayo utilizado para conocer si es soluble e insoluble en sustancias como agua y aceite.

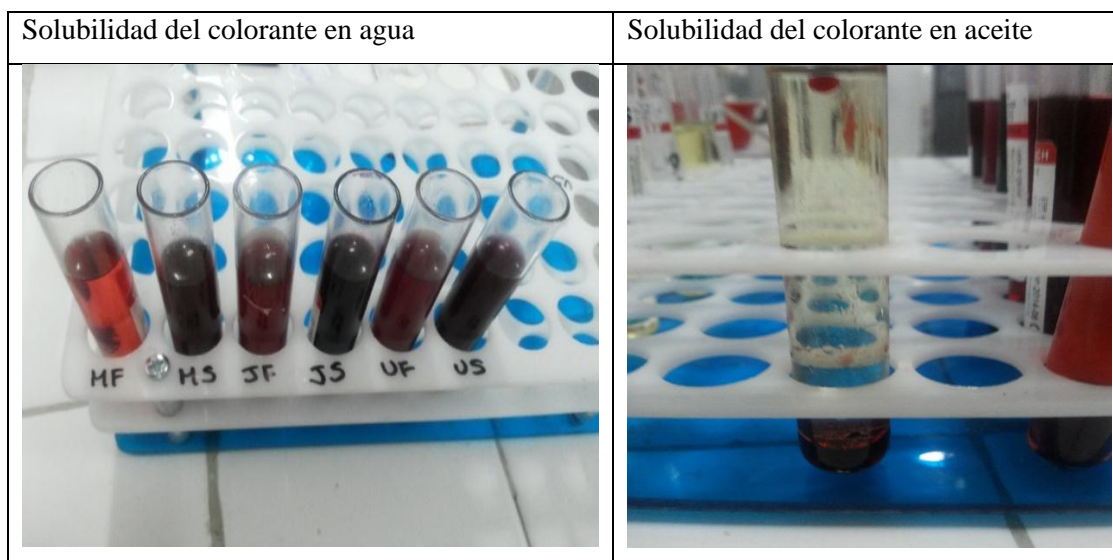


Figura 1-3: Solubilidad de colorantes

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

Según la figura 1-3 se puede observar la solubilidad de los colorantes extraídos por el método Soxhlet de materia vegetal fresca y seca de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*), mora (*Rubus glaucus*), y uva (*Vitis vinífera*); al momento de la aplicación en el agua estos no tienden a solubilizarse instantemente quedando en dos capas, esto se debe a la diferencia de densidad que presenta el agua destilada como el colorante, pero con la agitación rápida estos sin dificultad alguna se homogenizan ya que las antocianina se caracteriza por ser hidrosoluble, mientras que al probar la solubilidad con el aceite, estos no se solubilizan aun cuando se les agita constantemente y al pasar 3 minutos el colorante tiende a precipitarse, esto indica que los colorantes obtenidos no son solubles en aceites debido a que las antocianinas son hidrófilas y los aceites lipófilos.

3.1.6 Resultado del Análisis de Espectrofotometría UV-Visible

Este ensayo fue realizado con los colorantes naturales concentrados formando una solución patrón utilizando 3 ml de las muestras frescas y 1 ml en las muestras secas en 100 ml de agua destilada a excepción del colorante de jamaica del cual se usó 0.25 ml por la intensidad de este colorante no se pudo usar el mismo volumen porque el equipo no lee su absorbancia; de cada una de las soluciones patrón se preparó disoluciones de 5, 10, 15, 20 y 25 ppm con 50ml de agua destilada. El ensayo se realizó para conocer la concentración del pigmento.

Como se muestra en la tabla 9-3, la longitud de onda obtenida de la misma materia prima cambia con similitudes entre sí, influenciada por la diferencia de estados en las cuales se encuentran es decir, fresca y seca.

Según Ortega y Guerra (2006) las antocianinas exhiben un espectro de absorción de 500-545nm por la variedad de estructuras de antocianinas que se ven afectadas por los reactivos; como en el caso de etanol que afecta a la posición 7 de la molécula flavona.

En base a este dato se puede determinar que los pigmentos que se encuentran en los colorantes analizados son antocianina por la longitud de onda obtenida en el espectro y al compararse con el dato bibliográfico están dentro del rango establecido para este pigmento.

Rivera et al (2011), indica que la región espectral con un pico en el rango de $3420-3250\text{ cm}^{-1}$ corresponde a un grupo OH en alcoholes y fenoles, grupo funcional representativo de las antocianinas; para corroborar este dato se realizó el análisis de los colorantes en Espectrometría Infrarrojo obteniendo los siguientes datos significativos del espectro: colorante mora fresca, 3292 cm^{-1} ; colorante mora seca, 3292 cm^{-1} ; colorante jamaica fresca, 3316 cm^{-1} ; colorante jamaica seca, 3362 cm^{-1} ; colorante uva fresca, 3365 cm^{-1} ; colorante de uva seca, 3286 cm^{-1} ; no se identifica más grupos funcionales ya que no se realizó la purificación total del pigmento.

Considerando los datos obtenidos de los espectros de los colorantes analizados, hay similitud con los datos de Rivera.

Tabla 8-3: Resultados de la espectrofotometría UV-Visible de los colorantes

Muestra	λ , nm	Abs solución patrón del colorante	ppm	Abs de las diluciones	Ecuación Cuadrática	Concentración mg/L
Colorante Mora Fresca	513	0.696	5	0.03	$y = 0,0133x - 0,0464$	55.82
			10	0.083		
			15	0.14		
			20	0.215		
			25	0.296		
Colorante Mora Seca	516	1.277	5	0.079	$y = 0,0263x - 0,065$	51.03
			10	0.189		
			15	0.323		
			20	0.453		
			25	0.605		
Colorante Jamaica Fresca	520	1.433	5	0.064	$y = 0,0303x - 0,1377$	51.84
			10	0.15		
			15	0.268		
			20	0.407		
			25	0.692		
Colorante Jamaica Seca	521	1.188	5	0.06	$y = 0,0254x - 0,0819$	50.00
			10	0.153		
			15	0.261		
			20	0.498		
			25	0.522		
Colorante Uva Fresca	527	0.458	5	0.027	$y = 0,007x - 0,0088$	66.69
			10	0.062		
			15	0.096		
			20	0.126		
			25	0.170		
Colorante Uva Seca	525	0.407	5	0.018	$y = 0,0069x - 0,0199$	61.87
			10	0.047		
			15	0.079		
			20	0.12		
			25	0.154		

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

3.1.7 Resultados de Análisis de Microbiológico

La evaluación microbiológica se debe realizar en todo producto con fines alimenticios para determinar la presencia de microorganismos patógenos como Coliformes totales, fecales, *Escherichia coli*, Mohos y Levaduras, con la finalidad de verificar el riesgo que puede presentarse después de su consumo y saber la fuente de contaminación. Este ensayo se llevó a cabo con el método de sembrado en placas CompactDry, Petrifilm y agar Sabouround más cloranfenicol.

Tabla 9-3: Resultado de Análisis Microbiológico

Muestra	Coliformes totales y fecales	<i>Escherichia coli</i>	Mohos y Levadura
Colorante Mora Fresca	<10 UFC/ml	<10 UFC/ml	<10 UFC/ml
Colorante Mora Seca	<10 UFC/ml	<10 UFC/ml	<10 UFC/ml
Colorante Jamaica Fresca	<10 UFC/ml	<10 UFC/ml	<10 UFC/ml
Colorante Jamaica Seca	<10 UFC/ml	<10 UFC/ml	<10 UFC/ml
Colorante Uva Fresca	<10 UFC/ml	<10 UFC/ml	<10 UFC/ml
Colorante Uva Seca	<10 UFC/ml	<10 UFC/ml	<10 UFC/ml

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

Como se puede observar en la Tabla 10-3, para cada microorganismo estudiado se obtuvieron resultados similares con valores menores a 10 UFC/1ml de colorante, es decir no se observó crecimiento de ningún tipo de microorganismo en una dilución de 10^{-1} obteniendo resultados favorables de estos colorantes de origen natural para el uso en alimentos. Cabe mencionar que no existe ninguna normativa nacional e internacional que especifique el número de microorganismo para colorantes naturales.

3.1.8 Control de pH y características organolépticas del yogur con colorantes

La aplicación de los colorantes naturales de materia fresca y seca fueron añadidos en cantidades de 0.5, 1.0, 1.5 ml en 100 ml de yogur natural Toni, a los cuales se realizó un control de pH, color, olor y sabor cada 5 días por un período de 25 días, para ello se mantuvo los yogures en condiciones de refrigeración a temperatura de 4-5°C. Las concentraciones y tiempo de control se llevaron a cabo en similitud a las reportadas por Ortiz et,al (2012) en la aplicación de colorante natural de higo en yogur natural. Las características iniciales del yogur utilizado fue un pH=4.57 y sus características organolépticas de color blanco, olor y sabor normal agradable.

Tabla 10-3: Control de pH del yogur con colorante de mora fresca y seca

Días	Control de pH del Yogur con el colorante de mora fresca y seca					
	Cantidad de 0.5ml		Cantidad de 1ml		Cantidad de 1.5ml	
	Yogur + CMF	Yogur+ CMS	Yogur+ CMF	Yogur+ CMS	Yogur+ CMF	Yogur+ CMS
0	4.23	4.24	4.22	4.2	4.22	4.05
5	4.23	4.24	4.22	4.2	4.22	4.05
10	4.23	4.24	4.22	4.2	4.22	4.04
15	4.23	4.22	4.2	4.19	4.22	4.03
20	4.2	4.22	4.2	4.16	4.19	4.03
25	4.2	4.21	4.19	4.16	4.18	4.03
Color	Blanco	Blanco	Blanco	Rosado claro	Rosado claro	Rosado fuerte
Olor y Sabor	Característico					

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

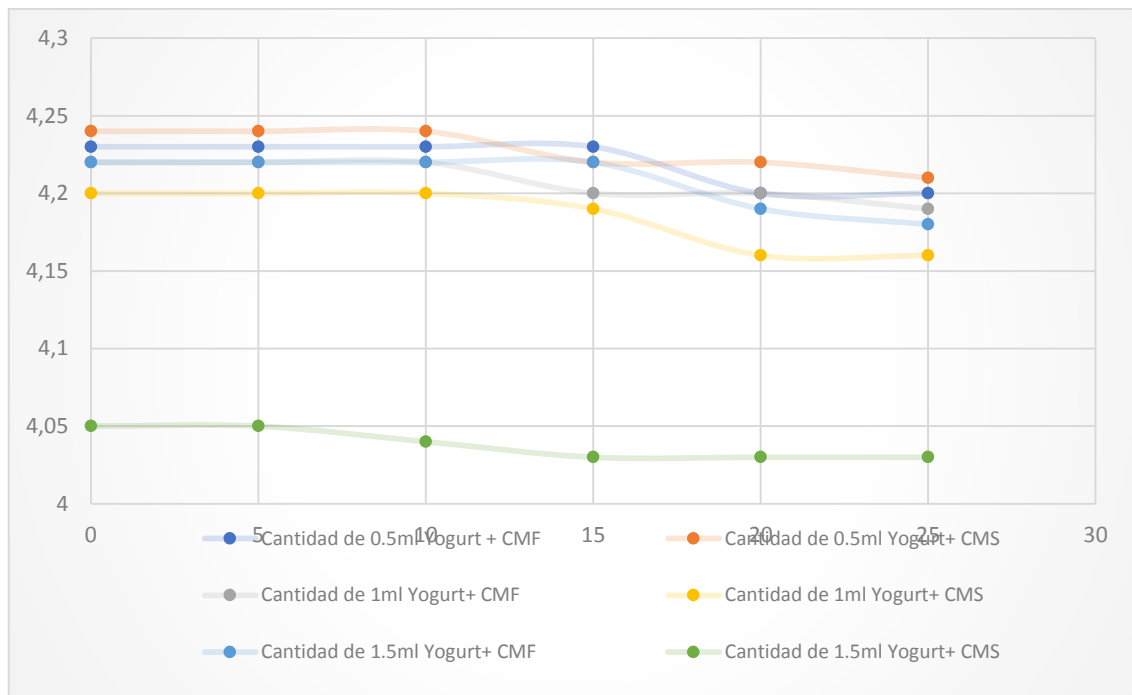


Gráfico 5-3: Control de pH del yogur con los colorantes de mora

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

Tabla 11-3: Control de pH del yogur con colorante de jamaica fresca y seca

Días	Control de pH del Yogur con el colorante de jamaica fresca y seca					
	Cantidad de 0.5ml		Cantidad de 1ml		Cantidad de 1.5ml	
	Yogur + CJF	Yogur+ CJS	Yogur+ CJF	Yogur+ CJS	Yogur+ CJF	Yogur+ CFS
0	4.33	4.28	4.32	4.15	4.32	4.10
5	4.33	4.28	4.32	4.15	4.32	4.10
10	4.33	4.28	4.32	4.15	4.31	4.10
15	4.30	4.28	4.31	4.14	4.31	4.08
20	4.30	4.28	4.31	4.14	4.30	4.08
25	4.29	4.27	4.31	4.12	4.30	4.07
Color	Blanco	Blanco	Rosado claro	lila claro	lila claro	lila fuerte
Olor y Sabor	Característico					

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

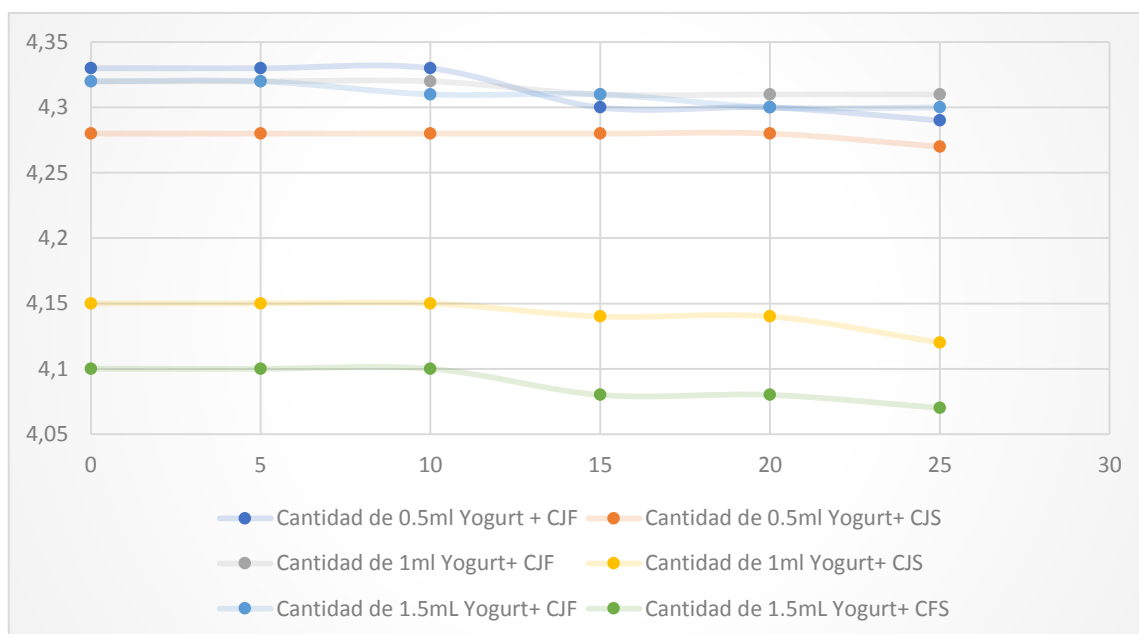


Gráfico 6-3: Control de pH del yogur con los colorantes de jamaica

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

Tabla 12-3: Control de pH del yogur con colorante de uva fresca y seca

Días	Control de pH del Yogur con el colorante de uva fresca y seca					
	Cantidad de 0.5ml		Cantidad de 1ml		Cantidad de 1.5ml	
	Yogur + CUF	Yogur+ CUS	Yogur+ CUF	Yogur+ CUS	Yogur+ CUF	Yogur+ CUS
0	4.3	4.21	4.24	4.2	4.22	4.13
5	4.3	4.21	4.24	4.2	4.22	4.13
10	4.28	4.21	4.24	4.19	4.2	4.13
15	4.28	4.2	4.22	4.19	4.2	4.12
20	4.28	4.2	4.22	4.15	4.18	4.12
25	4.26	4.18	4.21	4.15	4.16	4.11
Color	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco	lila claro
Olor y Sabor	Característico					

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

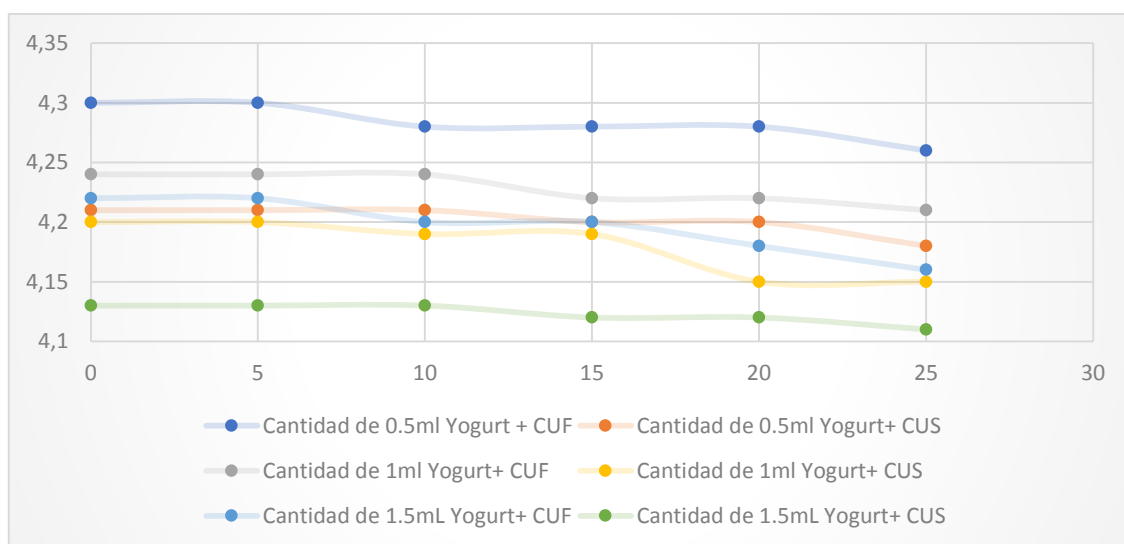


Gráfico 7-3: Control de pH del yogur con los colorantes de uva

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

Con la aplicación de los colorantes naturales a diferentes cantidades se pudo observar que cada uno de los yogures tiende a disminuir su pH, debido a que el pH de los colorantes son ácidos especialmente los de materia seca; de manera general estos, hasta los días 10 y 15, tienden a ser estables manteniendo el pH del día inicial, a partir del día 16 su pH desciende, esto ocurre porque la acidez permite la proliferación de microorganismos fermentadores, pero ninguno inferior a pH 4.0 ni superior a 4.6 que es el rango de pH al cual debe estar el yogur según lo establece el Codex Alimentario (2011), de no cumplirse con este rango el producto hubiera presentado un olor desagradable y sabor amargo como los resultados obtenidos por Ordoñez (2016).

En cuanto al color, el yogur con el colorante de mora, jamaica y uva en materia fresca y seca en la concentración de 0.5 ml son similares dando un color blanco, en la concentración 1.0 ml existe diferencia; los colorantes de materia seca tienden a pigmentar más que los de materia fresca evidenciándose así un color rosado claro en mora seca y el mismo color en jamaica fresca, y lila claro en jamaica seca, el resto de yogures permanecen con su coloración original y en la última concentración de 1.5 ml tienden a pigmentar más los colorantes de materia en los dos estados, dando un color rosado claro y rosado fuerte, respectivamente al yogur con el colorante de mora; lila claro y oscuro para el yogur con colorante de jamaica; y, en el caso del yogur con el colorante de uva solo se puede evidenciar un color lila claro en la concentración más alta, siendo blanco para el resto de concentraciones.

Estos resultados se deben a la variación del grado de concentración de azúcares, del pH, y la cantidad de colorante utilizado en el yogur, originando el cambio de color en la mayoría de las muestras durante el período de control de la aplicación.

En cuando al sabor y olor, la aplicación de estos colorantes no produjo cambios significativos, manteniéndose el olor y sabor característico del yogur natural.

3.1.9 Resultado de las encuesta de aceptabilidad

La encuesta de aceptabilidad se realizó a 30 personas de edad comprendidas entre 20-40 años de edad del Barrio San Carlos, manzana 9; a quienes se les entregó 18 muestras de yogur con la aplicación de los colorante de materia fresca y seca, con una breve explicación de que los colorantes fueron de origen de natural de 3 productos vegetales diferentes.

Cabe mencionar que para la presentación de los resultados se tomó la concentración mayor debido a que se tiene datos mayoritariamente representativos, mientras que los resultados de las concentraciones inferiores a la de 1.5 ml se obtuvo resultados de regular y malo siendo un indicativo de una deficiente aceptabilidad ya que estas muestras no tienen una notable diferencia entre ellos.

Tabla 13-3: Resultados de aceptabilidad del yogur con el colorante de mora fresca y seca

Calificación	Color				Olor				Sabor			
	Fresca		Seca		Fresca		Seca		Fresca		Seca	
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
Muy bueno	0	0.0	3	10.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	2	6.7
Bueno	0	0.0	18	60.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	17	56.7
Regular	12	40.0	9	30.0	6	20.0	7	23.3	6	20.0	10	33.3
Malo	18	60.0	0	0.0	24	80.0	23	76.7	24	80.0	1	3.3
Total	30	100.0	30	100.0	30	100.0	30	100.0	30	100.0	30	100.0

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

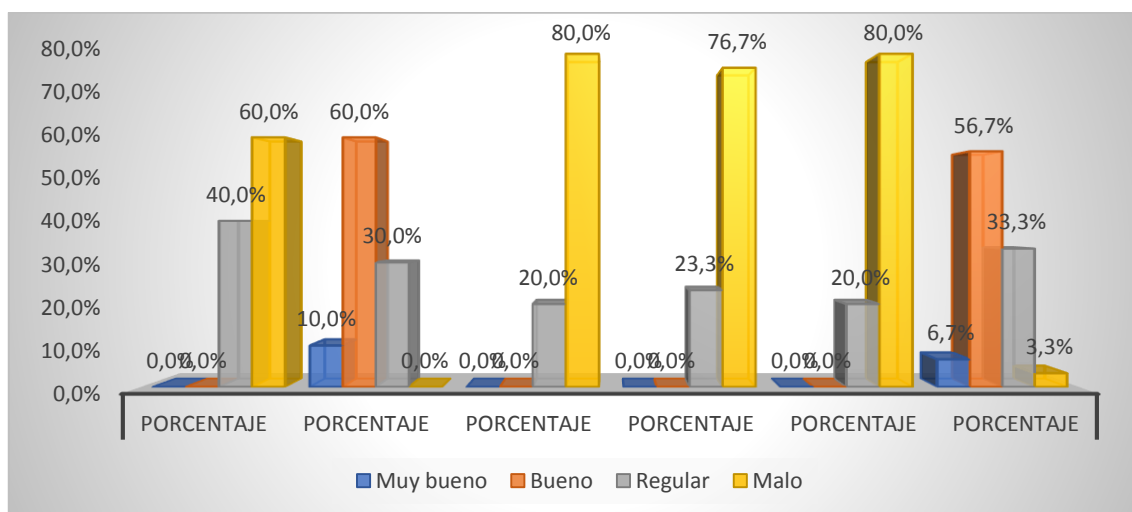


Gráfico 8-3: Porcentaje de aceptación de yogur con los colorantes naturales de mora

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

Al analizar la encuesta de aceptación del yogur con los colorantes naturales de mora, en cuanto al color en materia fresca, el 60% lo califica como malo porque no tiende a pigmentar el yogur permaneciendo blanco y en el caso de la materia seca, el 60% lo califica como bueno, pues al menos con la concentración más alta se observa una diferencia en su coloración, pasando de rosado claro a rosado oscuro.

Con respecto al olor en la materia fresca el 80% lo califica como malo que es similar a la materia seca con un 76.7% y en cuanto al sabor el 80% lo califica como malo y el 56.7% lo califica como bueno respectivamente, debido que el sabor puede estar influenciado por la acidez del colorante haciéndolo más ácido

Tabla 14-3: Resultados de aceptabilidad del yogur con el colorante de jamaica fresca y seca

Calificación	Color				Olor				Sabor			
	Fresca		Seca		Fresca		Seca		Fresca		Seca	
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
Muy bueno	0	0.0	29	96.7	0	0.0	0	0.0	1	3.3	0	0.0
Bueno	17	56.7	1	3.3	0	0.0	2	6.7	0	0.0	2	6.7
Regular	13	43.3	0	0.0	7	23.3	6	20.0	3	10.0	8	26.7
Malo	0	0.0	0	0.0	23	76.7	22	73.3	26	86.7	20	66.7
Total	30	100.0	30	100.0	30	100.0	30	100.0	30	100.0	30	100.0

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

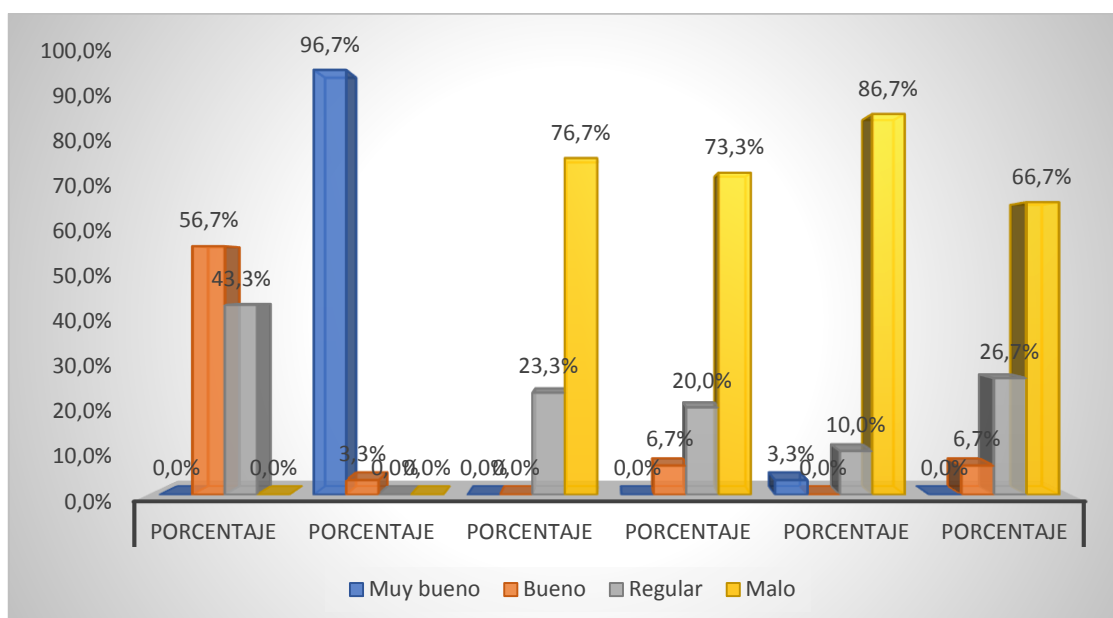


Gráfico 9-3: Porcentaje de aceptación de yogur con los colorantes naturales de jamaica

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

La aceptación del yogur con los colorantes naturales de jamaica, en cuanto al color en materia fresca, el 56.7% lo califica como bueno y en el caso de la materia seca, el 96.7% lo califica como muy bueno, resultados positivos por la favorable capacidad del colorante de pigmentar a una concentración intermedia de 1 ml con un color muy visible lila claro a la concentración de 1.5 ml lila oscuro.

En cuanto al olor y sabor, el 76.7% lo califica como malo en la materia fresca y el 73.3% en la materia seca. En cuanto al sabor es similar en materia fresca con el 86.7% y en materia seca el 66.7%, porque desde su forma natural la jamaica no tiene ni olor y sabor por ende no aporta estos aspectos al yogur.

Se puede evidenciar que existe una mayor aceptación en las muestras de yogur con el colorante de jamaica seca con un calificativo de muy bueno en el color y malo para el olor y sabor, mientras que para las muestra con colorante de jamaica fresca la aceptación es nula con un calificativo regular y malo para en el color, olor y sabor.

Tabla 15-3: Resultados de aceptabilidad del yogur con el colorante de uva fresca y seca

Calificación	Color				Olor				Sabor			
	Fresca		Seca		Fresca		Seca		Fresca		Seca	
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
Muy bueno	0	0.0	3	10.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	4	13.3
Bueno	1	3.3	18	60.0	0	0.0	1	3.3	0	0.0	4	13.3
Regular	16	53.3	9	30.0	2	6.7	4	13.3	14	46.7	15	50.0
Malo	13	43.3	0.0	0.0	28	93.3	25	83.3	16	53.3	7	23.3
Total	30	100.0	30	100.0	30	100.0	30	100.0	30	100.0	30	100.0

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

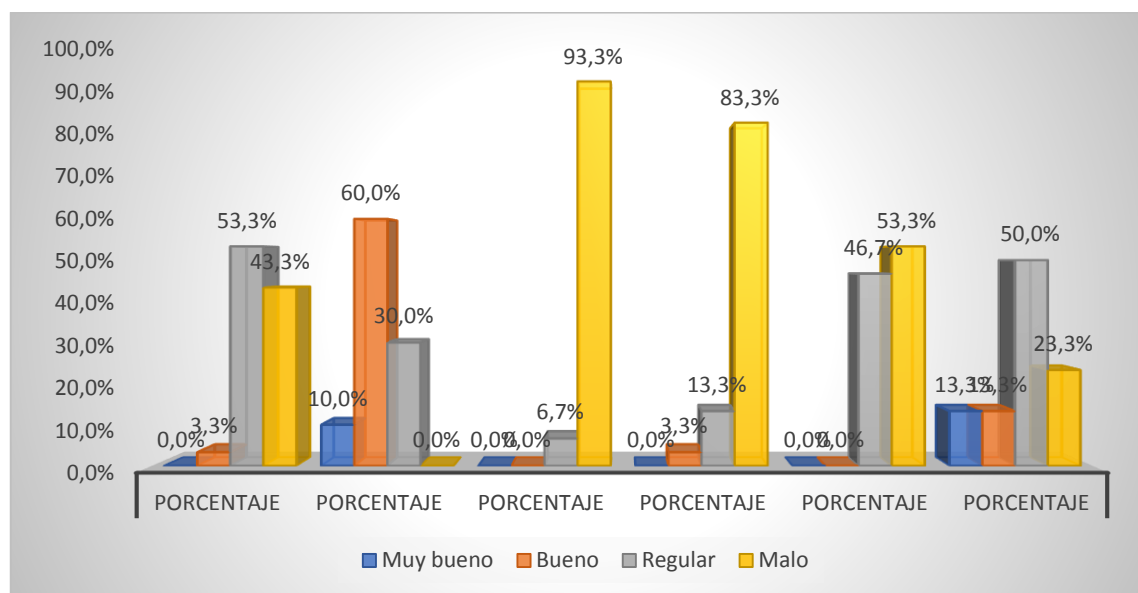


Gráfico 10-3: Porcentaje de aceptación de yogur con los colorantes naturales de uva

Realizado por: Amarilis Llamuca, 2018

Según se observa en el gráfico 10-3 , la aceptación del yogur con los colorantes naturales de uva, en cuanto al color en materia fresca, el 53.3 % lo califica como regular y en el caso de la materia

seca el 60 % lo califica bueno por su baja capacidad de pigmentar. Con respecto al olor en la materia fresca el 93.3% lo califica como malo que es similar a la materia seca con un 83.3% y en cuanto al sabor el 53.3% lo califica como malo y el 50% como regular en la materia seca, pues al ser solo el hollejo este no presenta mucho color, olor y sabor, como lo haría en el caso de utilizarse la fruta completa.

De manera general se puede observar que la aplicación de los colorantes en el yogur natural tiene una buena aceptabilidad como colorante más no como aromatizante ni saborizante.

CONCLUSIONES

- Mediante el análisis bromatológico proximal realizado a los cálices de jamaica, fruto de mora andina y hollejo de uva; los porcentajes de humedad, ceniza, fibra y proteína con los métodos de desecación en estufa de aire caliente, incineración en mufla, Weende y Kjeldahl, se concluye que las materias primas utilizadas tuvieron la composición nutricional establecida bibliográficamente, según la tabla de composición de los alimentos ecuatorianos y la de Duke.
- Con el método de extracción con solvente (método Soxhlet) utilizado en esta investigación se logró extraer colorantes naturales (Antocianinas) a partir de cálices de jamaica, fruto de mora y hollejo de uva, en estado fresco y seco, destacándose por su intensidad los colorantes provenientes de las materia secas.
- Al realizar los ensayos físicos químicos de los colorantes naturales se obtuvo los siguientes resultados:
 - ✓ Materia prima fresca: de mora un pH= 3.8, °Bx= 17.75, índice de refracción=1.36 y $\rho=0.9890$ g/ml; de cálices de jamaica un pH=3.15, °Bx=13.01, índice de refracción=1.35 y $\rho=0.9879$ g/ml; del hollejo de uva tiene un pH=4.01, °Bx= 20.60, índice de refracción=1.37 y $\rho= 0.9645$ g/ml.
 - ✓ Materia prima seca: de mora el pH=2.58, °Bx= 53.83, índice de refracción=1.43 y $\rho=1.1561$ g/ml; de cálices de jamaica un pH= 2.5, °Bx= 44.98, índice de refracción=44.98 y $\rho= 1.0435$ g/ml; del hollejo de uva con un pH=3.89, °Bx= 45.90, índice de refracción= 45.90 y $\rho=1.0692$ g/ml.
- La evaluación de la calidad microbiológica presentó valores para Coliformes totales y fecales <10 UFC/ml, *Escherichia coli* <10 UFC/ml, Mohos y levaduras <10 UFC/ml, mostrando que cada uno de colorantes naturales son inocuos y aptos para su uso.
- Al aplicarse en el yogur los colorantes naturales obtenidos con el experimento y al realizar el control de pH y las características organolépticas, estos se mantienen dentro del rango de aceptabilidad, lo que demuestra que es factible su uso en productos lácteos.

RECOMENDACIONES

- Ejecutar un análisis de los colorantes obtenidos con el equipo colorímetro para encontrar diferencia exacta entre materia fresca y seca.
- Realizar la caracterización de los pigmentos obtenidos con HPLC y comparar con un estándar de antocianinas.
- Llevar a cabo el análisis proximal y complementario de los colorantes extraídos y del yogur con el colorante.
- Investigar la aplicabilidad de los colorantes obtenidos a nivel de la industria cosmética.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbayes, H., Ferré, Y. & Gaussen, H.** *Botánica vegetales inferiores* [en línea]. 2da. Barcelona-España : Reverte, 1989. [Consulta: 12 febrero 2018] Disponible en: <https://books.google.com.ec/books?id=zjqqXtzghvoC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>.
- Aguilera, M, et,al.** “Propiedades Funcionales De Las Antocianinas”. *BIOTecnia* [en línea], 2011, México vol. 13, no. 2, pp. 16-22. [Consulta: 22 mayo 2018]. ISSN 1665-1456. Disponible en: <http://biotecnia.ojs.escire.net/index.php/biotecnia/article/view/81>.
- Alija, J.** *La Mora* [en línea]. Bogotá: J.Alija, 2015. [Consulta: 10 marzo 2018]. Disponible en: <http://www.joseanalija.com/mora/>.
- Aranceta, J. & Pérez, C.** *Frutas Verduras y Salud*. [en línea]. Barcelona-España: Elsevier., 2006. [Consulta: 30 mayo 2018] Disponible en: https://books.google.com.ec/books?id>If2ENqizEIA&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&false
- Badui, S.** *Química de los alimentos*. 4ta. Juaréz-México: Addison Wesley, 2006, pp. 1-738.
- Badui, S., et,Al.** *Química de los Alimentos*. 2da. México: Alhambra Mexicana S. A., 1990, pp. 1-649.
- Bowen, M.** *Malos Hábitos Alimenticios*. [en línea]. Manabi, El diario, 2015. [Consulta: 30 mayo 2018]. Disponible en: <http://www.eldiario.ec/noticias-manabi-ecuador/346392-malos-habitos-alimenticios/>.
- Burgos, M. & Ibañez, E.** Optimización para la extracción de antocianinas en *Vaccinium corymbosum* L. (Arándano), Noviembre 2015. [en línea]. (Tesis). Universidad Nacional de Trujillo, Farmacia y Bioquímica. Trujillo-Perú. 2015. pp.20-25 [Consulta: 27 marzo 2018]. Disponible en: http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/3476/Burgos_Aguilar_Martha_Paola.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
- Cano, A.** Extracción y uso de tres pigmentos naturales a partir de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav .), Mortiño (*Vaccinium mytillus* L .) y mora de Castilla (*Rubus glaucus*) como alternativa colorante natural para alimentos [en línea]. (Tesis). Escuela Politécnica del Ejército, Ciencias Agropecuarias. Sangolquí-Ecuador. 2011. pp. 75-78. [Consulta: 1 febrero 2018]. Disponible en: <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/4929/1/T-ESPE-IASA I-004583.pdf>.
- Castañeda, A. & Guerrero, J.** Pigmentos en Frutas y Hortalizas rojas: Antocianinas. [en línea]. (Tesis). (Maestría) Universidad de las Américas Puebla. Puebla-México. 2015. pp. 28-33. [Consulta: 22 mayo 2018]. Disponible en: <http://web.udlap.mx/tsia/files/2016/05/TSIA-9-Castaneda-Sanchez-et-al-2015.pdf>.

- Castillo, S. & Ramírez, I.** Ensayo preliminar para la obtención de colorantes naturales a partir de especies vegetales comestibles [en línea]. (Tesis). Universidad de el Salvador, Química y Farmacia. El Salvador- Centro América. 2006. pp.20-23 [Consulta: 27 marzo 2018]. Disponible en: <http://ri.ues.edu.sv/4989/1/16100351.pdf>
- Contento, A.** *Nuevos métodos fotométricos y cromatograficos para la determinación de coloracion rojos en los alimentos.* Valencia-España: Diseño Cidi,1997. [Consulta: 2 febrero 2018]. Disponible en: <https://books.google.com/books?hl=es&lr=&pg=PA11&dq=Nuevos%20m%20pigmentos%20alimentos&f=false>
- Del Socorro, N., Et,Al.** “Antocianinas y actividad anti radicales libre de *Rubus adenotrichus* schltl”. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas* [en línea], 2011. Méxicovol. 42, no. 4, pp. 66-71. [Consulta: 29 marzo 2018]. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952011000400007.
- Delgado, F. Y Paredes, O.** *Natural Colorants for Food and Nutraceutical Uses.* Washington-New York: CRC Press, 2002, pp.1-342.
- Escobar, C.** *El cultivo de la mora (Rubus glaucus)* [en línea]. Ecuador,2011. [Consulta: 28 marzo 2018]. Disponible en: <https://sioc.minagricultura.gov.co/Mora/Documentos/005 - Documentos Técnicos/D.T - Ficha cultivo de mora.pdf>.
- Espino, G.** *Antocianinas, los otros pigmentos del reino vegetal.* [blog]. Burgo:UBUScientia,2014 [en línea]. [Consulta: 18 junio 2018]. Disponible en: <http://ubuscientia.blogspot.com/2014/01/antocianinas-los-otros-pigmentos-del.html>.
- Gaete, C.** *Colorantes naturales: un nuevo y potente rubro para el agro.* [en línea]. España, 2014. [Consulta: 22 mayo 2018]. Disponible en: <http://www.elmercurio.com/Campo/Noticias/2017/08/28/Colorantes-naturales-un-nuevo-y-potente-rubro-para-el-agro.aspx>.
- Gamarra, S.** *Los colorantes naturales del momento* [en línea]. Belgica,2009. [Consulta: 30 mayo 2018]. Disponible en: <http://www.alimentacion.enfasis.com/articulos/14761-los-colorantes-naturales-del-momento>.
- Garzón, G.** “Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos”. *Redalyc.* [en línea], 2008, Colombia.vol. 13, no. 3, pp. 27-36. [Consulta: 22 mayo 2018]. ISSN 0120-548X. Disponible en: <http://www.redalyc.org/html/3190/319028004002/>.
- Gibaja, S.** *Pigmentos naturales quinónicos.* [en línea]. San Marcos:Fondo Editorial. 1998. [Consulta: 2 febrero 2018]. Disponible en: <https://books.google.com.ec/books?id=VUM8PK8jxcQC&pg=PA11&dq=Nuevos%20m%20pigmentos%20alimentos&f=false>
- Hernández, F.** *Equipo Soxhlet.* [blog]. México, 2013. [Consulta: 22 mayo 2018]. Disponible en: <http://rosagerlam.blogspot.com/>.
- Hidalgo, R., et,al.** “Propiedades medicinales de la semilla de uva”. *Revista de investigación e información en salud* [en línea], 2016, Colombia vol. 11, no.26, pp. 53-57. [Consulta: 28 marzo 2018]. ISSN 2075-6194. Disponible en: <http://www.revistasbolivianas.org.bo/pdf>

/riis/ v11 n26/ 11n26_a09.pdf.

- Kuklinski, C.** *Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. Barcelona-España: Omega S.A., 2003, pp.1-285.
- Laguna, E.** “Sobre las formas naturalizadas de *Vitis L.* (Vitaceae) en la Comunidad Valenciana, i especies”. *Flora Montibetrica*. [en línea]. 2003, Valencia vol. 23, no.12, pp. 46-82. [Consulta: 14 mayo 2018]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/1394799.pdf>
- León, M., et,al.** “Estudio de los aditivos alimentarios y su repercusión en la población infantil”. *Medicina de Familia*. [en línea], Granada vol. 1, pp. 25-30. [Consulta: 22 mayo 2018]. Disponible en: [http://www.samfyc.es/Revista/PDF/numero 1/025-30.pdf](http://www.samfyc.es/Revista/PDF/numero%201/025-30.pdf).
- Ministerio Agricultura, Ganadería, Acucultura y Pesca.** *La Mora de Castilla* [en línea]. Quito-Ecuador, 2013. [Consulta: 9 marzo 2018]. Disponible en: [http://balcon.magap.gob.ec/mag01/magapaldia/HOMBRO A HOMBRO/manuales/Manual El cultivo de la mora.pdf](http://balcon.magap.gob.ec/mag01/magapaldia/HOMBRO%20A%20HOMBRO/manuales/Manual%20El%20cultivo%20de%20la%20mora.pdf).
- Marin, S. & Mejía, C.** Extracción de colorante a partir de la flor de jamaica [en línea].(Tesis) Universidad Nacional de Ingeniería, Ingeniería Química, Managua-Nicaragua. [Consulta: 1 febrero 2018]. Disponible en: <http://ribuni.uni.edu.ni/619/1/37975.pdf>.
- Millán, F.** Métodos espectroscópicos UV visible para análisis molecular y elemental. (Tesis) (Maestría), Instituto Universitario Politécnico “Santiago Mariño”, Venezuela. 2016. pp. 54.
- Ministerio De Salud.** *Resolución 10593 de 1985*. [en línea].Bogotá,1985. [Consulta: 22 mayo 2018]. Disponible en: [https://docs.supersalud.gov.co/PortalWeb/Juridica/OtraNormativa /R1059385. pdf](https://docs.supersalud.gov.co/PortalWeb/Juridica/OtraNormativa/R1059385.pdf).
- Mondragón, P.** *Espectroscopia Infrarrojo para todos* [en línea]. México: Ciatej, 2017. [Consulta: 22 mayo 2018]. Disponible en: [http://ciatej.mx/files/divulgacion/divulgacion_5a43b 7c09fdcl.pdf](http://ciatej.mx/files/divulgacion/divulgacion_5a43b7c09fdcl.pdf).
- Moreno, V.** “La importancia del color en los alimentos”. *Revista Alimentaria* [en línea]. 2016 Madrid vol.6, pp.6-7 [Consulta: 22 mayo 2018]. Disponible en: http://www.revistaalimentaria.es/fotos_noticias/PDF4752.pdf.
- Nguyen, T., et,al.** 2018." Encapsulation of Hibiscus sabdariffa L. anthocyanins as natural colours in yeast". *Food Research International* [en línea], 2018, Francia vol. 107, pp. 275-280. [Consulta: 22 mayo 2018]. ISSN 18737145. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.02.044>.
- Nte Inen-Codex.** *Norma General del Código para Aditivos Alimentarios (MOD)*. [en línea]. Quito-Ecuador,2013. [Consulta: 22 mayo 2018]. Disponible en: <http://www.normalizacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2014/ACTUALIZACION/04112014/192-CODEX-UNIDO.pdf>.

- Núñez, C.** *Extracciones con equipo soxhlet* [en línea]. Argentina,2008. [Consulta: 22 mayo 2018]. Disponible en: <http://www.cenunez.com.ar/archivos/39-ExtraccinconequipoSoxhlet.pdf>.
- Organización Mundial De La Salud.** *Aditivos alimentarios*. [en línea]. Ecuador, 2018. [Consulta: 22 mayo 2018]. Disponible en: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-additives>.
- Organización Mundial De La Salud /Organización Panamericana De La Salud.** *Los aditivos en exceso no son buenos*. [en línea]. Ecuador,2013 [Consulta: 22 mayo 2018]. Disponible en:
https://www.paho.org/ecu/index.php?option=com_content&view=article&id=995:agosto-15-2013&Itemid=972.
- Ordóñez, I. & Saavedra, R.** Extracción y uso del colorante natural de la flor de jamaica (*Hibiscus Sabdariffa*) como alternativa para la elaboración de salchicha y yogurt. ». S.l.: Universidad de Cuenca. [en línea].(Tesis) Universidad de Cuenca, Ciencias Químicas. Cuenca-Ecuador.2016. pp. 75-82. [Consulta: 22 mayo 2018]. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/23488/1/tesis.pdf.pdf>
- Pérez, C., et,al.** “Anatomía de la madera de cinco especies de la familia Rosaceae”. *Scielo* [en línea], 2008, México vol. 14, no. 1, pp. 81-105. [Consulta: 22 mayo 2018]. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S140504712008000100007&script=sci_arttext&tlng=en.
- Ramírez, M., et,al.** “Obtención de un colorante natural alimentario de mora de Castilla (*Rubus glaucus benth*) The Extraction of a Foodstuff Natural Coloring out of Blackberries (*Rubus glaucus benth*)”. *Ciencia en Desarrollo* [en línea], 2006, Bogotá vol. 2, no. 2, pp. 115-130. [Consulta: 12 marzo 2018]. ISSN 0121-7488. Disponible en: http://revistas.uptc.edu.co/index.php/ciencia_en_desarrollo/article/viewFile/260/264.
- Rondón, J.** “La subfamilia Malvoideae (Malvaceae s.l.) en el occidente del estado Sucre, Venezuela”. *Revista UDO Agrícola* [en línea], 2009 Venezuela vol.9 no.9, pp.599-621 [Consulta: 22 mayo 2018]. Disponible en: <http://www.bioline.org.br/pdf?cg09076>.
- Sánchez, J.** “La Química del Color en los Alimentos”. *Redalyc*. [en línea], 2013, Argentina vol. 12, pp. 234-246. [Consulta: 22 mayo 2018]. ISSN 1666-7948 Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86329278005>.
- Sing, O.** *Colorantes Naturales*. [en línea]. Lima-Perú: Ava Diseño, 1997. [Consulta: 2 febrero]. Disponible en: https://books.google.com.ec/books?id=LjmH_3qjaEIC&printsec=frontcover&dq=COLORANTES%20NATURALES&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiInY_3tYvcAhWPr1kKHRBHC6AQ6AEIEzAA#v=onepage&q=COLORANTES%20NATURALES&f=false

- Sumaya, M., et,al.** “Potencial de la Jamaica (Hibiscus Sabdariffa L.) en la Elaboración de Alimentos Funcionales con Actividad Antioxidante”. *Revista Mexicana de Agronegocios* [en línea], 2014, México vol. 35, pp. 1082-1088. [Consulta: 18 marzo 2018]. ISSN 1405-9282. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/141/14131676017.pdf>.
- Toledo De Oliveira, T., et,al** “Propiedades biológicas de los tintes naturales”. *Ars Pharmaceutica*, [en línea], 2004, Brazil vol. 45, no. 1, pp. 5-20. [Consulta: 22 2018]. ISSN 00042927. Disponible en: <http://farmacia.ugr.es/ars/pdf/276.pdf>
- Urbina, F.** Cultivo de Flor de jamaica (Hibiscus sabdariffa L.) y (Hibiscus cruentus Bertol). [en línea]. Nicaragua, 2009. [Consulta: 28 marzo 2018]. Disponible en: <http://cenida.una.edu.ni/relectronicos/RENF01U73.pdf>
- Valenciaga, D. & Simoes, E.** “ La espectroscopia de reflectancia en el infrarojo cercano (NIRS) y sus potencialidades para la evaluación de forrajes“. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola* [en línea], 2016, La habana- Cuba vol. 40, no. 3, pp. 259-267. [Consulta: 22 mayo 2018]. ISSN. 0034-7485. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/1930/193017723001.pdf>.
- Zapata, L., et,al.** “Optimización de la extracción de antocianinas de arándanos”. *Ciencia, docencia y tecnología* [en línea], 2014, Argentina vol. 25, no. 49, pp. 166-192. [Consulta: 27 marzo 2018]. ISSN 1851-1716 Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-17162014000200008.

ANEXOS

Anexo A Solvente para la extracción



Gráfico A1: Preparación del solvente

Fuente: Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH

Anexo B Análisis físico-químicas del solvente



Gráfico B1: Medición de pH de la solución.

Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, ESPOCH



Gráfico B2: Medición con el alcoholímetro.

Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, ESPOCH

Anexo C Pesado de la materia prima



Gráfico C1: Materia prima fresca.
Fuente: Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH



Gráfico C2: Materia prima seca.
Fuente: Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH

Anexo D Proceso de secado con el equipo secador de bandeja tipo armario



Gráfico D1: Colocación de la materia prima en la bandeja.
Fuente: Laboratorio de Procesos Industriales, ESPOCH



Gráfico D2: Bandejas de la materia prima en el secador en bandeja tipo armario.
Fuente: Laboratorio de Procesos Industriales, ESPOCH



Gráfico D3: Bandeja con la materia prima seca.

Fuente: Laboratorio de Procesos Industriales, ESPOCH



Gráfico D4: Fundas de las materias primas secas.

Fuente: Laboratorio de Procesos Industriales, ESPOCH

Anexo E Análisis de Ceniza y humedad



Gráfico E1: Tareo de las cápsulas y crisoles.

Fuente: Laboratorio de Bromatología, ESPOCH

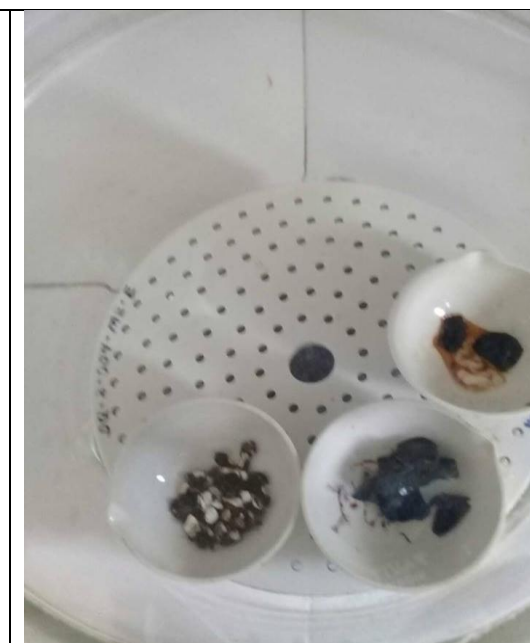


Gráfico E2: Dsecación de materia prima.

Fuente: Laboratorio de Bromatología, ESPOCH



Gráfico E3: Peso de la muestra.

Fuente: Laboratorio de Bromatología, ESPOCH



Gráfico E4: Ceniza de la muestra.

Fuente: Laboratorio de Bromatología, ESPOCH

Anexo F Proceso de extracción con el equipo Soxhlet



Gráfico F1: Extracción del colorante.

Fuente: Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH



Gráfico F2: Soxhlet en el proceso de extracción.

Fuente: Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH



Gráfico F3: Extracción del colorante de los diferentes productos en materia fresca.

Fuente: Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH



Gráfico F4: Extracción del colorante de los diferentes productos en materia seca.

Fuente: Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH



Gráfico F5: Terminación de reflujo.

Fuente: Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH

Anexo G Pesado de materia prima extraída



Gráfico G1: Pesado de materia fresca luego de la extracción.

Fuente: Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH



Gráfico G2: Pesado de materia seca luego de la extracción.

Fuente: Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH

Anexo H Proceso de concentración



Gráfico H1: Colocación del solvente más colorante en el rotavapor.

Fuente: Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH



Gráfico H2: Concentración del colorante.

Fuente: Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH



Gráfico H3: Recuperación de solvente en la concentración.

Fuente: Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH



Gráfico H4: Colorante concentrado.

Fuente: Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH

Anexo I Proceso de filtrado del colorante



Gráfico I1: Filtrado de colorante através del papel filtro.

Fuente: Laboratorio de Productos Naturales, ESPOCH

Anexo J Medición de pH de los colorantes concentrados



Gráfico J1: Medición de pH del colorante de materia seca.

Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, ESPOCH



Gráfico J2: Limpieza del electródo con agua destilada.

Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, ESPOCH



Gráfico J3: Colorantes para la medición.

Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, ESPOCH



Gráfico J4: Decisión de pH del colorante de materia fresca.

Fuente: Laboratorio de Procesos Industriales, ESPOCH

Anexo K Análisis de densidad de los colorantes



Gráfico K1: Pesado del picnómetro con agua.



Gráfico K2: Picnómetros con agua.

Fuente: Laboratorio de Procesos Industriales, ESPOCH



Gráfico K3: Pesado del picnómetro con colorante.



Gráfico K4: Picnómetros con colorante.

Fuente: Laboratorio de Procesos Industriales, ESPOCH

Anexo L Análisis de grados brix e índice de refracción



Gráfico L1: Medición de grados brix del colorante.

Fuente: Laboratorio de Procesos Industriales, ESPOCH



Gráfico L2: Medición de índice de refracción del colorante.

Fuente: Laboratorio de Procesos Industriales, ESPOCH

Anexo M Análisis espectrofotometría UV -Visible



Gráfico M1: Diluciones en ppm.
Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, ESPOCH



Gráfico M2: Lectura de las diluciones.
Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, ESPOCH

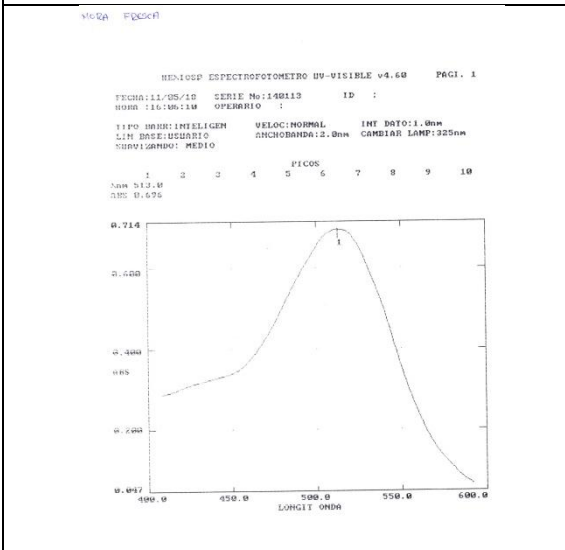


Gráfico M3: Absorbancia y longitud de onda de la solución patrón de la mora fresca.
Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, ESPOCH

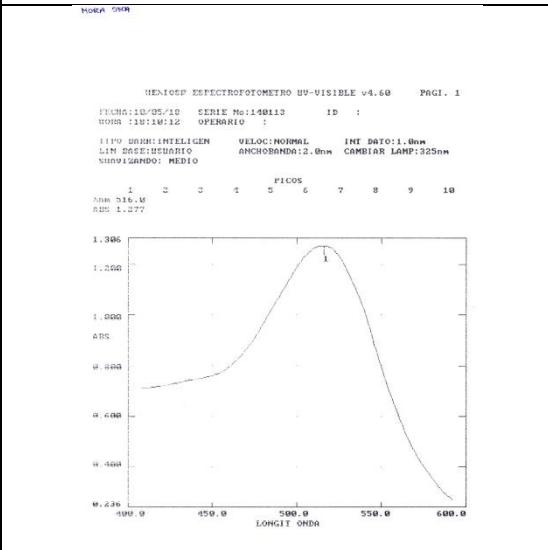


Gráfico M4: Absorbancia y longitud de onda de la solución patrón de la mora seca.
Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, ESPOCH

Mora Fresca

HELIOSP ESPECTROFOTOMETRO UV-VISIBLE v4.60 PAGI. 1

FECHA:11/05/10 SERIE No:140113 ID :

HORA :17:14:30 OPERARIO :

SELEC. A:SENCILLA ANCHOBANDA:2.0nm INTEGRACION:1s

CAMBIAR LAMP:325nm TIEMP RETRASO:00:00

LONG. ONDA:513.0nm

MUESTRA	ABS	MUESTRA	ABS
1	0.030		
2	0.023		
3	0.140		
4	0.215		
5	0.236		

Gráfico M5: Absorbancia de las diluciones del colorante de la mora fresca.

Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, ESPOCH

Mora Seca

HELIOSP ESPECTROFOTOMETRO UV-VISIBLE v4.60 PAGI. 1

FECHA:10/05/10 SERIE No:140113 ID :

HORA :17:12:14 OPERARIO :

SELEC. A:SENCILLA ANCHOBANDA:2.0nm INTEGRACION:1s

CAMBIAR LAMP:325nm TIEMP RETRASO:00:00

LONG. ONDA:516.0nm

MUESTRA	ABS	MUESTRA	ABS
1	0.079		
2	0.159		
3	0.323		
4	0.452		
5	0.645		

Gráfico M6: Absorbancia de las diluciones del colorante de la mora seca.

Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, ESPOCH

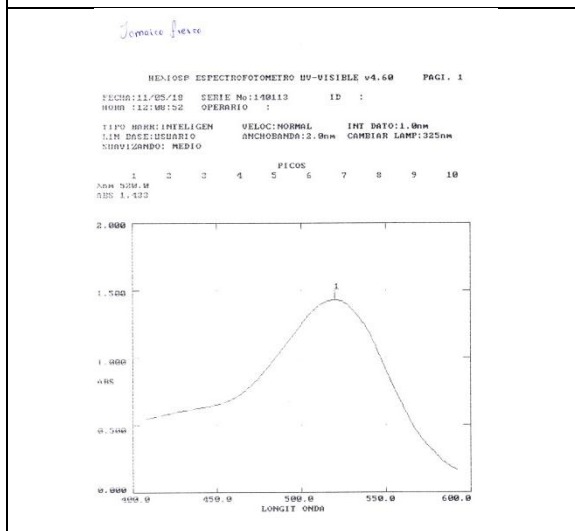


Gráfico M7: Absorbancia y longitud de onda de la solución patrón de la jamaica fresca.

Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, ESPOCH

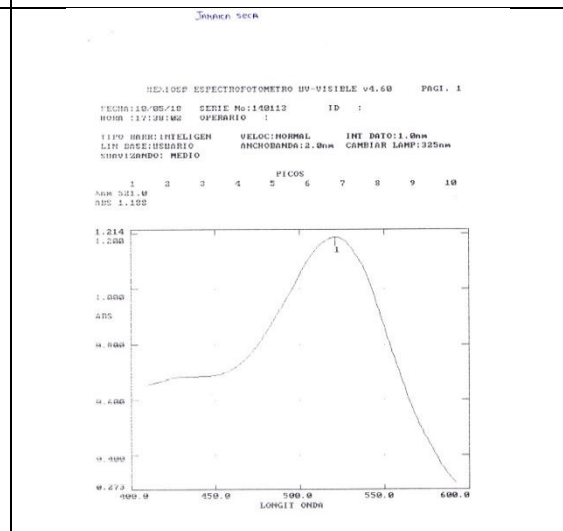


Gráfico M8: Absorbancia y longitud de onda de la solución patrón de la jamaica seca.

Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, ESPOCH

Jamaica Fresca

HELIOSP ESPECTROFOTOMETRO UV-VISIBLE v4.60 PAGI. 1

FECHA:11/05/10 SERIE No:140113 ID :

HORA :17:14:30 OPERARIO :

SELEC. A:SENCILLA ANCHOBANDA:2.0nm INTEGRACION:1s

CAMBIAR LAMP:325nm TIEMP RETRASO:00:00

LONG. ONDA:513.0nm

MUESTRA	ABS	MUESTRA	ABS
1	0.064		
2	0.150		
3	0.266		
4	0.407		
5	0.632		

Gráfico M9: Absorbancia de las diluciones del colorante de la jamaica fresca.

Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, ESPOCH

Jamaica seca

HELIOSP ESPECTROFOTOMETRO UV-VISIBLE v4.60 PAGI. 1

FECHA:10/05/10 SERIE No:140113 ID :

HORA :17:43:32 OPERARIO :

SELEC. A:SENCILLA ANCHOBANDA:2.0nm INTEGRACION:1s

CAMBIAR LAMP:325nm TIEMP RETRASO:00:00

LONG. ONDA:516.0nm

MUESTRA	ABS	MUESTRA	ABS
1	0.060		
2	0.152		
3	0.261		
4	0.420		
5	0.592		

Gráfico M10: Absorbancia de las diluciones del colorante de la jamaica seca.

Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, ESPOCH

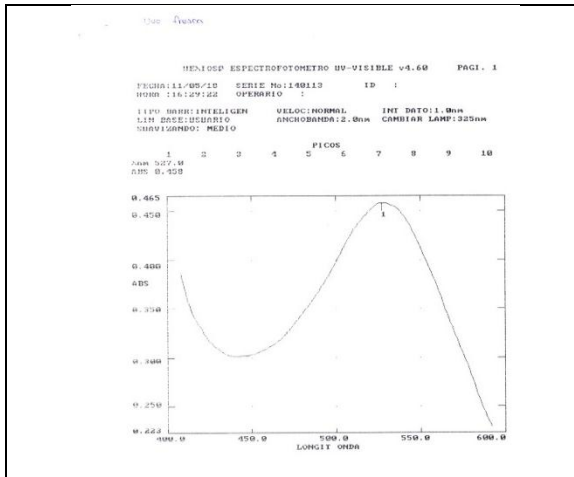


Gráfico M11: Absorbancia y longitud de onda de la solución patrón de la uva fresca.
Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, ESPOCH

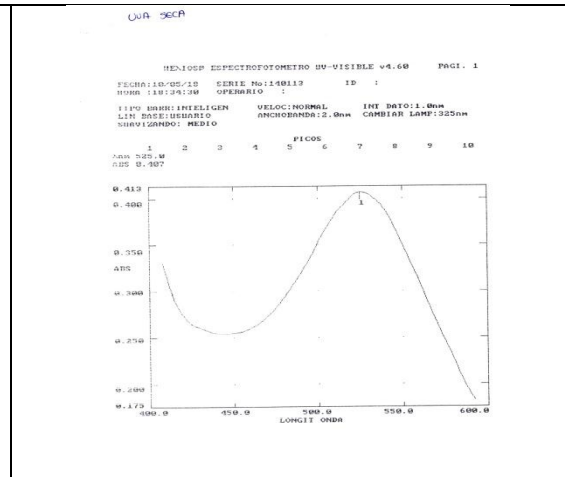


Gráfico M12: Absorbancia y longitud de onda de la solución patrón de la uva seca.
Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, ESPOCH

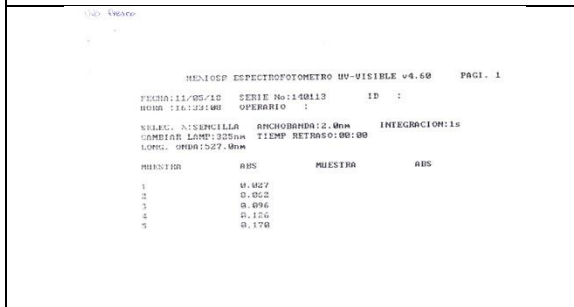


Gráfico M13: Absorbancia de las diluciones del colorante de la uva fresca.
Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, ESPOCH

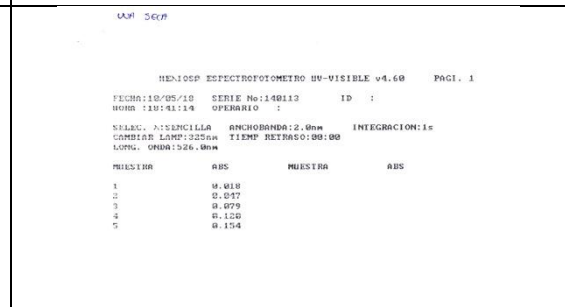


Gráfico M14: Absorbancia de las diluciones del colorante de la uva seca.
Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, ESPOCH

Anexo N Regresión lineal y ecuación cuadrática

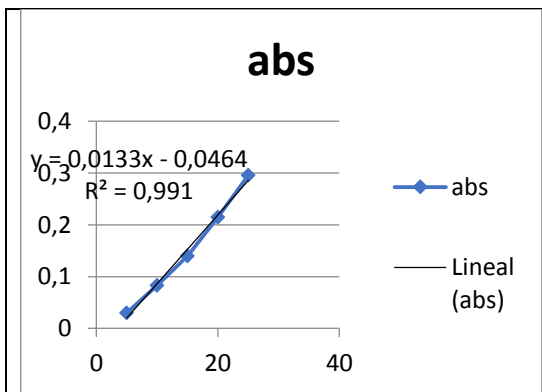


Gráfico N 1: Curva de calibración colorante mora fresca

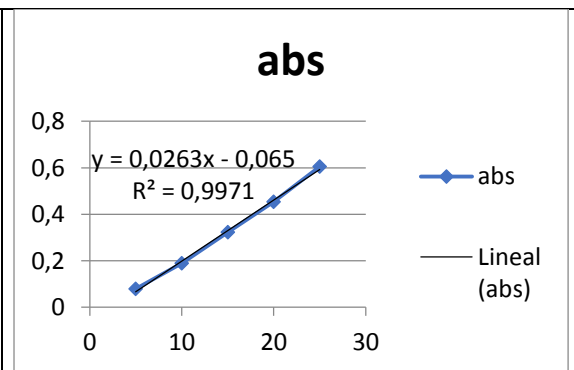
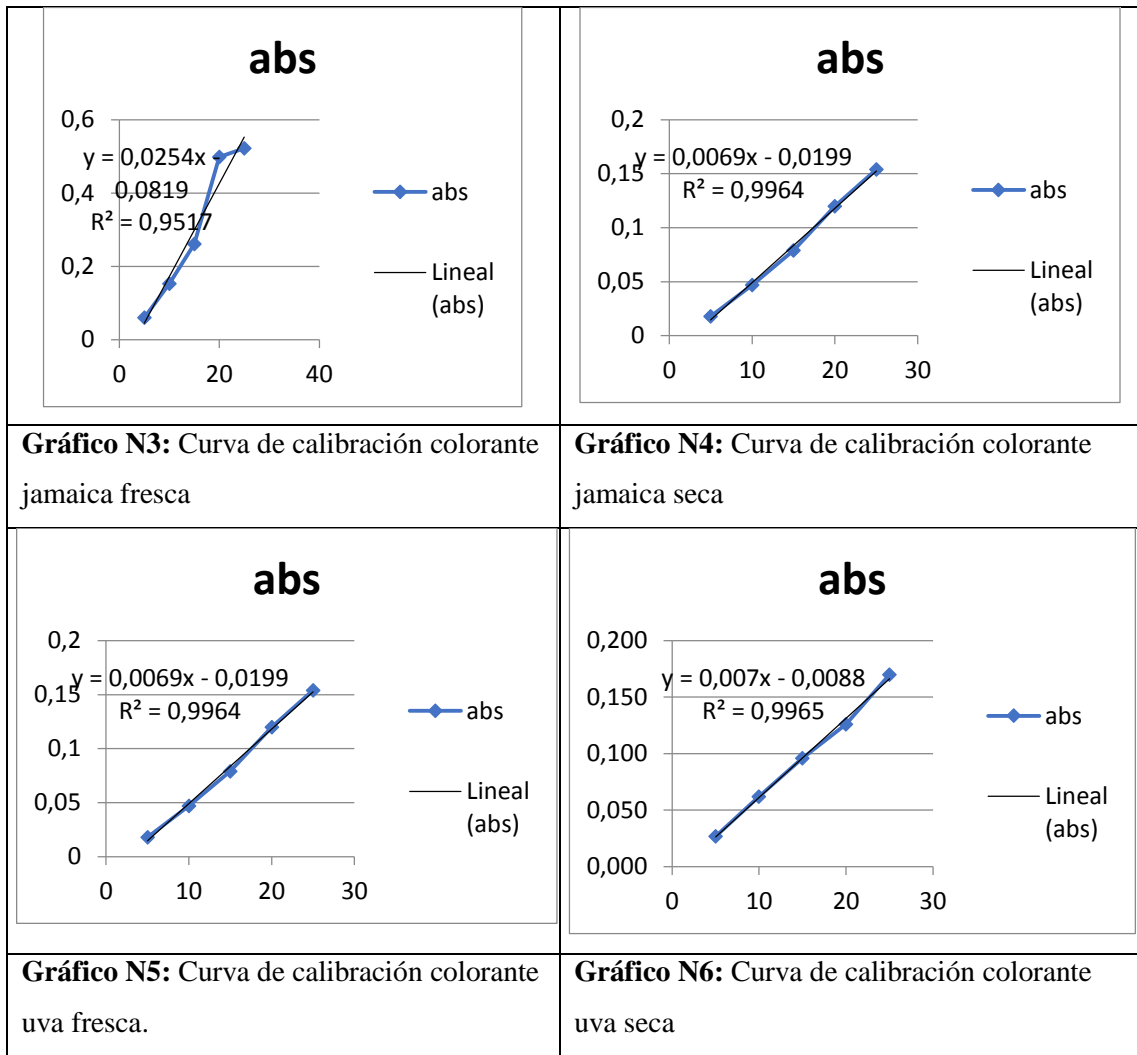


Gráfico N 2: Curva de calibración colorante mora seca



Anexo O Análisis microbiológico de los colorantes.



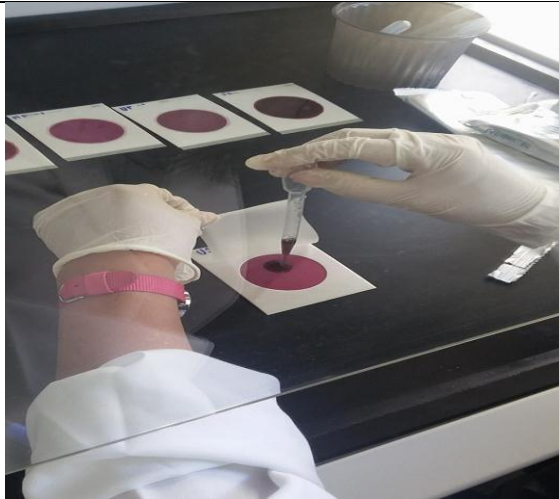


Gráfico 03: Aplicación de colorante en placas Pretrifilm.

Fuente: Laboratorio de Microbiología, ESPOCH



Gráfico 04: Aplicación de colorante en placa CompactDry.

Fuente: Laboratorio de Microbiología, ESPOCH



Contáctanos: 0993387300 - 032924322
Av. 11 de Noviembre y Milton Reyes Riobamba – Ecuador

EXAMEN MICROBIOLÓGICO

CLIENTE: Srta. Amarilis Elizabeth LLamuca Arévalo

UBICACION: Cantón Riobamba

CÓDIGO: 030-18

TIPO DE MUESTRA: Colorantes naturales de productos vegetales

FECHA DE RECEPCIÓN: 02 de mayo de 2018

FECHA DE MUESTREO: 02 de mayo de 2018

RESULTADOS DE ANÁLISIS

CÓDIGO DE MUESTRA	DETERMINACIÓN	UNIDADES	MÉTODO	RESULTADO
Jamaica Fresca (JF)	Coliformes Totales	UFC/1mL	Siembra en placa	<10
Jamaica Seca (JS)	Coliformes Totales	UFC/1mL	Siembra en placa	<10
Mora Fresca (MF)	Coliformes Totales	UFC/1mL	Siembra en placa	<10
Mora Seca (MS)	Coliformes Totales	UFC/1mL	Siembra en placa	<10
Uva Fresca (UF)	Coliformes Totales	UFC/1mL	Siembra en placa	<10
Uva Seca (US)	Coliformes Totales	UFC/1mL	Siembra en placa	<10

OBSERVACIONES: no se observó crecimiento en dilución de 10^{-1}

FECHA DE ANÁLISIS: 02 de mayo de 2018

FECHA DE ENTREGA: 07 de mayo de 2018

RESPONSABLE:


Dra. Gina Álvarez R.



El informe sólo afecta a la muestra solicitada a ensayo, el informe no deberá reproducirse sino en su totalidad previo autorización de los responsables.

Gráfico 05: Resultados de análisis microbiológico-Coliformes Totales.

EXAMEN MICROBIOLÓGICO

CLIENTE: Srta. Amarilis Elizabeth LLamuca Arévalo
UBICACION: Cantón Riobamba **CÓDIGO:** 030-18
TIPO DE MUESTRA: Colorantes naturales de productos vegetales
FECHA DE RECEPCIÓN: 02 de mayo de 2018
FECHA DE MUESTREO: 02 de mayo de 2018

RESULTADOS DE ANÁLISIS

CÓDIGO DE MUESTRA	DETERMINACIÓN	UNIDADES	MÉTODO	RESULTADO
Jamaica Fresca (JF)	Coliformes Fecales	UFC/1mL	Siembra en placa	<10
Jamaica Seca (JS)	Coliformes Fecales	UFC/1mL	Siembra en placa	<10
Mora Fresca (MF)	Coliformes Fecales	UFC/1mL	Siembra en placa	<10
Mora Seca (MS)	Coliformes Fecales	UFC/1mL	Siembra en placa	<10
Uva Fresca (UF)	Coliformes Fecales	UFC/1mL	Siembra en placa	<10
Uva Seca (US)	Coliformes Fecales	UFC/1mL	Siembra en placa	<10

OBSERVACIONES: no se observó crecimiento en dilución de 10^{-1}

FECHA DE ANÁLISIS: 02 de mayo de 2018

FECHA DE ENTREGA: 07 de mayo de 2018

RESPONSABLE:


Dra. Gina Alvarez R.
 Servicio de Análisis Químicos y Microbiológicos
Dra. Gina Alvarez
Telf.: 2 924 322 // Cel.: 0998580374

El informe sólo afecta a la muestra solicitada a ensayo, el informe no deberá reproducirse sino en su totalidad previo autorización de los responsables.

Gráfico O6: Resultados de análisis microbiológico-Coliformes Fecales.

EXAMEN MICROBIOLÓGICO

CLIENTE: Srta. Amarilis Elizabeth LLamuca Arévalo
UBICACION: Cantón Riobamba **CÓDIGO:** 030-18
TIPO DE MUESTRA: Colorantes naturales de productos vegetales
FECHA DE RECEPCIÓN: 02 de mayo de 2018
FECHA DE MUESTREO: 02 de mayo de 2018

RESULTADOS DE ANÁLISIS

CÓDIGO DE MUESTRA	DETERMINACIÓN	UNIDADES	MÉTODO	RESULTADO
Jamaica Fresca (JF)	Escherichia Coli	UFC/1mL	Siembra en placa	<10
Jamaica Seca (JS)	Escherichia Coli	UFC/1mL	Siembra en placa	<10
Mora Fresca (MF)	Escherichia Coli	UFC/1mL	Siembra en placa	<10
Mora Seca (MS)	Escherichia Coli	UFC/1mL	Siembra en placa	<10
Uva Fresca (UF)	Escherichia Coli	UFC/1mL	Siembra en placa	<10
Uva Seca (US)	Escherichia Coli	UFC/1mL	Siembra en placa	<10

OBSERVACIONES: no se observó crecimiento en dilución de 10^{-1}

FECHA DE ANÁLISIS: 02 de mayo de 2018

FECHA DE ENTREGA: 07 de mayo de 2018

RESPONSABLE:


Dra. Gina Alvarez R.
 Servicio de Análisis Químicos y Microbiológicos
Dra. Gina Alvarez
Telf.: 2 924 322 // Cel.: 0998580374

El informe sólo afecta a la muestra solicitada a ensayo, el informe no deberá reproducirse sino en su totalidad previo autorización de los responsables.

Gráfico O7: Resultados de análisis microbiológico *Escherichia Coli*.

Anexo P Aplicación del colorante en un yogur natural



Gráfico P1: Yogur sin colorante.

Fuente: Laboratorio de Procesos Industriales, ESPOCH



Gráfico P2: Colorante en el yogur.

Fuente: Laboratorio de Procesos Industriales, ESPOCH

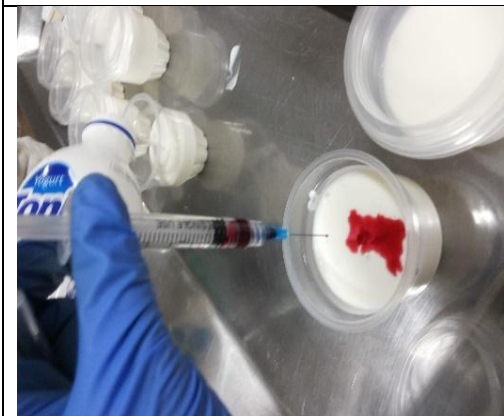


Gráfico p 3: Aplicación del colorante en el yogur.

Fuente: Laboratorio de Procesos Industriales, ESPOCH



Gráfico p 4: Yogur con colorante en las diferentes concentraciones.

Fuente: Laboratorio de Procesos Industriales, ESPOCH

Anexo Q Control de pH del yogur con los colorantes naturales

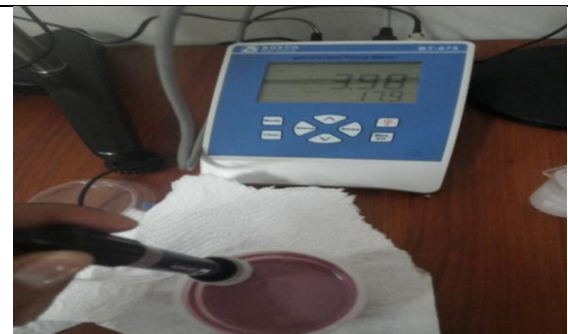
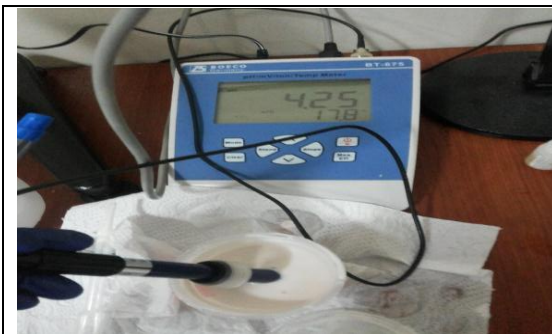


Gráfico Q1: Medición de pH del yogur con colorante natural.

Fuente: Laboratorio de Procesos Industriales, ESPOCH



Gráfico Q2: Control a 5 días de aplicado.
Fuente: Laboratorio de Procesos Industriales, ESPOCH

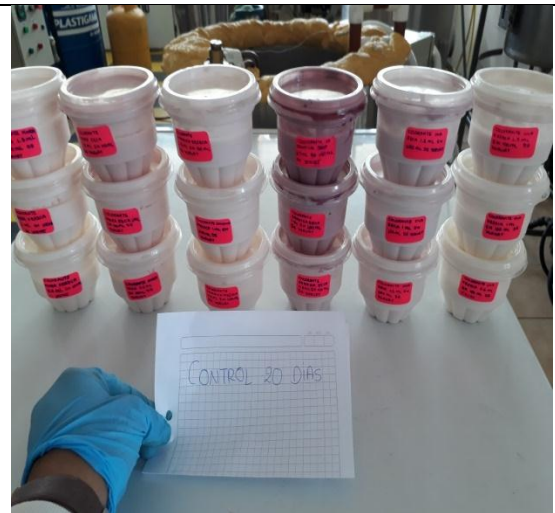


Gráfico Q3: Control a 20 días de aplicado.
Fuente: Laboratorio de Procesos Industriales, ESPOCH

Anexo R Encuestas

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
ENCUESTA DE ACEPTABILIDAD DE COLORANTES NATURALES
 Esta encuesta constituye un valor importante para el proyecto de Tesis titulado "EXTRACCIÓN DE COLORANTES NATURALES DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa*), MORA ANDINA (*Rubus glaucus*) y UVA (*Vitis vinifera*) PARA EL USO EN LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS"

Edad: _____
 Sexo: Masculino Femenino

Considerando la aplicación del colorante natural en el yogurt. ¿Cómo calificaría el impacto del colorante en el color, olor, sabor? Malo, Regular, Bueno, Muy Bueno

Mora Fresca			
VASO 1	COLOR	OLOR	SABOR
Muy bueno			
Bueno			
Regular			
Malo			

Mora Seca			
VASO 1	COLOR	OLOR	SABOR
Muy bueno			
Bueno			
Regular			
Malo			

Jamaica Fresca			
VASO 1	COLOR	OLOR	SABOR
Muy bueno			
Bueno			
Regular			
Malo			

Jamaica Seca			
VASO 1	COLOR	OLOR	SABOR
Muy bueno			
Bueno			
Regular			
Malo			

Uva Fresca			
VASO 1	COLOR	OLOR	SABOR
Muy bueno			
Bueno			
Regular			
Malo			

Uva Seca			
VASO 1	COLOR	OLOR	SABOR
Muy bueno			
Bueno			
Regular			
Malo			

Gráfico R1: Formato de encuesta aplicada a la población.



pGráfico R2: Muestras para la encuesta.



Gráfico R3: Encuestadora.

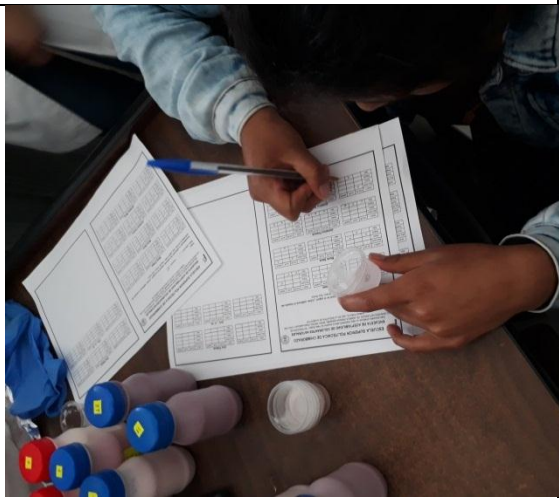


Gráfico R4: Evidencia de la encuesta realizada.



Gráfico R5: Evidencia del grupo encuestado.