



**UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS,**  
**RECURSOS NATURALES Y DEL AMBIENTE**  
**ESCUELA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

**TEMA:**

**“OBTENCIÓN DE COLORANTE NATURAL A PARTIR DE DOS  
VARIETADES DE MORA (*Rubus Glaucus*) MEDIANTE LA  
UTILIZACIÓN DE DOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN Y DOS  
TIEMPOS DE DESHIDRATACIÓN Y SU APLICACIÓN EN  
PRODUCTOS LÁCTEOS”**

**Tesis de Grado Previo a la Obtención del Título de Ingeniera/o Agroindustrial  
otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar, a través de la, Facultad de  
Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, Escuela de  
Ingeniería Agroindustrial.**

**AUTORES**

**MARÍA ESTHELA CRUZ GARCÍA**

**ALEXIS WLADIMIR GARCÍA GAIBOR**

**DIRECTORA DE TESIS**

**DRA. ODERAY MERINO P. M.Sc.**

**GUARANDA – ECUADOR**

**2013**

**TEMA:**

**“OBTENCIÓN DE COLORANTE NATURAL A PARTIR DE DOS  
VARIEDADES DE MORA (*Rubus Glaucus*) MEDIANTE LA UTILIZACIÓN  
DE DOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN Y DOS TIEMPOS DE  
DESHIDRATACIÓN Y SU APLICACIÓN EN PRODUCTOS LÁCTEOS”**

**REVISADO POR:**

.....

**DRA. ODERAY MERINO P. M.Sc.**

**DIRECTORA DE TESIS**

.....

**ING. MILTON BARRAGÁN CAMACHO M.Sc.**

**BIOMETRISTA**

.....

**DRA. HERMINIA SANAGUANO SALGUERO M.Sc.**

**ÁREA TÉCNICA**

.....

**ING. VICENTE DOMÍNGUEZ NARVÁEZ**

**REDACCIÓN TÉCNICA**

## DECLARACIÓN

Nosotros, María Esthela Cruz García y Alexis Wladimir García Gaibor, autores declaramos que el trabajo aquí descrito es de nuestra autoría; este documento no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que las referencias bibliográficas que se incluyen han sido consultadas.

La Universidad Estatal de Bolívar puede hacer uso de los derechos de publicación correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la Normativa Institucional vigente.

---

María Esthela Cruz García

0202086955

---

Alexis Wladimir García Gaibor

0202073391

## **DEDICATORIA**

A Dios, por darme la fuerza y perseverancia al ser que nos da la vida, agradecerle por haberme permitido seguir luchando por mis metas.

A mis Padres Orlando Cruz y Emilia García para ellos mi reconocimiento y gratitud; por haber llenado mi espíritu de esperanza. Para ellos que sin escatimar esfuerzo alguno alentaron en mí las ganas de superación y lucha, me apoyaron en toda mi carrera universitaria que hoy culmino con satisfacción.

A mis familiares: sobrinos (Jeremy Cruz, Samantha Escobar y Anderson Allan), cuñados, hermanos y amigos por la estimación y apoyo que siempre me han brindado, por su cariño incondicional.

En reconocimiento a sus sacrificios y desvelos, vaya para ellos mi voto más sentido y sincero por una existencia llena de satisfacción, con el propósito de hacer honor a la profesión que acaban de dejarme como la más preciada herencia.

**Esthela Cruz G.**

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios por bendecirme para llegar hasta donde he llegado, porque hiciste realidad mi sueño.

No podía quedar en silencio la obra edificante del maestro, con la basta preparación y la experiencia.

A la Universidad Estatal de Bolívar, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente y a la Escuela de Ingeniería Agroindustrial, a sus autoridades y a todos mis maestros quienes aportaron con sus conocimientos y experiencias.

A todos los miembros del tribunal: Dra. Oderay Merino, Ing. Milton Barragán, Dra. Herminia Sanaguano, Ing. Vicente Domínguez, que de una u otra forma, participaron en la realización de esta investigación, hago extensivo mi más sincero agradecimiento por su generosidad al brindarme la oportunidad de recurrir a su capacidad y experiencia fundamental para la concreción del presente trabajo investigativo, por sus valiosas sugerencias y acertados aportes durante el desarrollo del presente trabajo.

También agradezco a una persona importante que estuvo durante toda mi carrera profesional apoyándome en todo momento, a la Lic. Rossana Jarrin.

**Esthela Cruz G.**

## **DEDICATORIA.**

En mi caso particular, creo conveniente agradecer primero y sobre todas las cosas a Dios, quien guía mi camino.

A mi Madre, Padre y Abuelo que con su sacrificio y amor desinteresado, me ayudan en todo cuanto está a su alcance para llegar a la meta trazada en mi camino.

A mis hermanos, que con el solo hecho de estar a mi lado, me dieron fuerzas y alegrías.

A Rosana Jarrin que con sus consejos y apoyo he podido llegar a este punto de mi vida

Finalmente pero no menos importante quiero hacer extensiva esta dedicatoria a los profesionales que nos impartieron sus conocimientos formando así nuevos profesionales que sirven al país.

**Alexis García.**

## **AGRADECIMIENTO.**

Agradeciendo primeramente a Dios, el dador de todas las cosas, quien permite que todo ocurra y poder llegar a este momento.

A mi padre, quien con su apoyo emocional y económico, han hecho posible la culminación de esta ingeniería que se constituye en un triunfo para él y el mío propio.

Una mención de gratitud quiero extender a la Universidad Estatal de Bolívar, en especial a las autoridades y docentes de la Escuela de Ingeniería Agroindustrial, por abrir sus puertas hacia la enseñanza y el conocimiento formándome profesionalmente.

De igual manera, expreso un agradecimiento efusivo a los docentes de esta querida institución, Dra. Oderay Merino, Ing. Milton Barragán, Dra. Herminia Sanaguano, Ing. Vicente Domínguez, quienes que con su colaboración y entrega nos apoyaron para la culminación de este trabajo.

Finalmente, pero no menos importantes, a los integrantes de esta Tesis de Grado, quienes formamos un equipo de trabajo excelente y más que todo, buenos amigos.

**Alexis García.**

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

Nº		PAG.
I	<b>INTRODUCCIÓN</b>	1
II	<b>MARCO TEÓRICO</b>	3
2.1.	<b>CARACTERÍSTICAS DE LA MORA DE CASTILLA (<i>Rubus Glaucus</i>) CON ESPINAS</b>	3
2.1.2.	Producción	4
2.1.3.	Características físico-químicas	6
2.1.4.	Cambios ocurridos durante la maduración de la mora de castilla.	7
2.2.	<b>CARACTERÍSTICAS DE LA MORA DE CASTILLA (<i>Rubus Glaucus</i>) SIN ESPINAS</b>	8
2.2.2.	Mora para exportación	10
2.2.3.	Requerimientos agroecológico	10
2.3.	<b>ADITIVO ALIMENTARIO</b>	11
2.3.1.	Justificación del uso de aditivos	11
2.3.2.	Buenas prácticas de fabricación (BPF)	12
2.3.3.	La utilización de los aditivos promueve	13
2.3.4.	La utilización de los aditivos nos permite	13
2.3.5.	Los colorantes en los alimentos	13
2.3.6.	Colorantes en la industria alimentaria	15
2.3.7.	Colorantes alimentarios naturales	15
2.3.8.	Antocianos	16



2.3.9.	Carotenoides	17
2.3.10.	Clorofilas	17
2.3.11.	Ácido carmínico o cochinilla (E-120)	18
2.3.12.	Curcumina	18
2.3.13.	Colorantes alimentarios artificiales	19
2.3.14.	Colorantes azoicos	19
2.3.15.	Colorantes indigoides	20
2.3.16.	Eritrosina	20
2.4.	<b>LAS ANTOCIANINAS</b>	21
2.4.1.	Factores que afectan la estabilidad de las antocianinas	21
2.4.2.	Temperatura	22
2.4.3.	Iones metálicos	22
2.4.4.	Efecto del pH sobre el color de las antocianinas	23
2.4.5.	Determinación de las antocianinas	23
2.4.6.	Determinación de antocianinas de forma total	23
2.5.	Presentación de colorantes	24
2.6.	Usos de los colorantes	24
2.6.1.	En alimentación	24
2.6.2.	Fuera de la industria alimentaria	24
2.7.	Clasificación de los colorantes	25
2.7.1.	De acuerdo al color	25
2.7.2.	De acuerdo a su origen	25
2.8.	Clasificación según las propiedades y el modo de aplicación	25

2.8.1.	Colorantes directos	26
2.8.2.	Colorantes dispersos	26
2.8.3.	Colorantes ácidos o básicos	26
2.8.4.	Colorantes reactivos	26
2.9.	Colorantes naturales más utilizados en la industria alimenticia	27
2.10.	Estabilidad en los alimentos	28
2.11.	<b>TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN</b>	28
2.11.1.	Extracción de colorantes	28
2.11.2.	Extracción y lixiviación	28
2.12.	Otros métodos para obtención de colorantes	29
2.12.1.	Prensado	29
2.12.2.	Maceración	29
2.12.3.	Maceración en frío	30
2.12.4.	Maceración con calor	30
2.12.5.	Extracción con solvente	31
2.12.6.	Destilación por arrastre de vapor	31
2.12.7.	Deshidratación.	31
2.13.	<b>MÉTODOS DE SECADO</b>	33
2.13.1.	Técnicas de secado	33
2.13.2.	Deshidratación con aire caliente	33
2.13.3.	Deshidratador de bandejas o anaqueles	34
2.14.	<b>FUNDAMENTOS DE LA ESPECTROFOTOMETRÍA</b>	34
2.14.1.	Ley de Lambert	35

2.14.2.	Ley de Beer	36
2.14.3.	Transmitancia (T)	37
2.14.4.	Absorbancia (A)	37
2.14.5.	Selección de longitud de onda de trabajo	38
2.15.	<b>CROMATOGRAFÍA</b>	38
2.15.1.	Cromatografía en papel	39
2.15.2.	Factor de recorrido (Rf)	41
2.16.	<b>YOGUR</b>	43
2.16.1	Composición	44
III	<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	46
3.1.	<b>MATERIALES</b>	46
3.1.1.	Localización de la investigación	46
3.1.2.	Situación geográfica y climática de la localidad	46
3.1.3.	<b>ZONA DE VIDA</b>	47
3.1.4.	Material experimental	47
3.1.5.	Materiales de campo	47
3.1.6.	Materiales de laboratorio	47
3.1.7.	Reactivos	48
3.1.8.	Materiales oficina	48
3.2.	<b>MÉTODOS</b>	49
3.2.1.	Diseño experimental	49
3.2.2.	Factores en estudio	49
3.2.3.	<b>VARIABLES EVALUADAS</b>	51

a)	Materia prima (MP)	51
b)	Producto terminado (colorante mejor tratamiento)	51
c)	Aplicación del colorante en yogur	51
3.2.4.	Análisis estadístico	52
3.3.	Descripción del proceso para la obtención de colorante natural mediante deshidratado.	52
3.3.1.	Recepción de la materia prima	52
3.3.2.	Selección	52
3.3.3.	Lavado	52
3.3.4.	Pesado	52
3.3.5.	Despulpado	53
3.3.6.	Tamizado	53
3.3.7.	Concentrado	53
3.3.8.	Deshidratado	53
3.3.9.	Pulverizado	53
3.3.10.	Tamizado	53
3.3.11.	Envasado	54
3.3.12.	Almacenado	54
3.4.	Diagrama de flujo para la extracción y aplicación del colorante natural de mora mediante deshidratado	55
3.5.	Descripción del proceso para la obtención de colorante natural mediante maceración	56
3.5.1.	Recepción de la materia prima	56
3.5.2.	Selección	56

3.5.3.	Lavado	56
3.5.4.	Pesado	56
3.5.5.	Cortado	56
3.5.6.	Maceración	57
3.5.7.	Filtrado	57
3.5.8.	Separación	57
3.5.9.	Deshidratado	57
3.5.10.	Pulverizado	57
3.5.10.	Tamizado	58
3.5.12.	Envasado	58
3.5.13.	Almacenado	58
3.6.	Diagrama de flujo para la extracción y aplicación del colorante natural de mora mediante maceración	59
IV	<b>RESULTADOS Y DISCUSIONES</b>	60
4.1.	Materia prima	60
a)	Peso	60
b)	Potencial hidrogeno (pH)	60
c)	Grados brix (°Brix)	61
4.2.	<b>PRODUCTO TERMINADO</b>	61
4.2.1.	Características organolépticas	62
4.2.1.1.	<b>COLOR.</b>	62
a)	Análisis de Varianza para el atributo color del colorante obtenido a partir de mora	62
b)	Prueba de Tukey al 5% para el atributo color en el factor C	63

4.2.1.2.	<b>OLOR</b>	67
a)	Análisis de Varianza para el atributo olor del colorante de mora.	67
4.2.1.3.	<b>TEXTURA</b>	71
a)	Análisis de Varianza para el atributo textura del colorante de mora.	71
4.2.1.4.	<b>ACEPTABILIDAD DEL COLORANTE EN EL YOGUR</b>	76
a)	Análisis de Varianza para aceptabilidad del yogur	76
4.3.	<b>ANÁLISIS DE CORRELACIÓN Y REGRESIÓN SIMPLE</b>	81
4.3.1.	Coefficiente de correlación (r)	81
4.3.2.	Coefficiente de regresión (b)	81
4.3.3.	Coefficiente de determinación (R%)	81
4.4.	<b>ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICOS EN EL PRODUCTO TERMINADO</b>	82
4.4.1.	Análisis de pH en los tratamientos	82
4.4.2.	Análisis de pesos en los tratamientos	82
4.4.3.	Análisis de humedad en los tratamientos	83
4.4.4.	Análisis microbiológicos en el producto terminado	84
4.4.	<b>ESPECTROFOTOMETRÍA</b>	85
4.5.	<b>CROMATOGRAFÍA DE PAPEL</b>	88
4.6.	<b>ANÁLISIS ECONÓMICO</b>	90
V.	<b>VERIFICACIÓN DE HIPÓTESIS</b>	91
VI.	<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	93
6.1.	CONCLUSIONES	93
6.2.	RECOMENDACIONES	96

VII.	<b>RESUMEN Y SUMMARY</b>	98
7.1.	RESUMEN	98
7.2.	SUMMARY	100
VIII.	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	102

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Nº</b>	<b>DESCRIPCIÓN</b>	<b>PAG.</b>
1	Taxonomía de la mora con espinas	3
2	Producción de la mora por provincias	5
3	Composición química de la mora de castilla	5
4	Composición general de la mora de castilla según autores	6
5	Medidas físicas para la mora de castilla	7
6	Cambios ocurridos durante la maduración de la mora	7
7	Taxonomía de la mora sin espinas	9
8	Valores del factor de retención (Rf) para el colorante de mora	43



## ÍNDICE DE TABLAS

Nº	DESCRIPCIÓN	PAG.
1	Ubicación del experimento	46
2	Parámetros climatológicos	46
3	Factores en estudio	49
4	Combinación de los tratamientos	50
5	Análisis de varianza	50
6	Características del experimento	51
7	Análisis de variables en la materia prima	60
8	Análisis de varianza para color del colorante obtenido a partir de mora	62
9	Prueba de Tukey al 5% para la variable color en el factor C	63
10	Prueba de Tukey al 5% para el variable color	63
11	Análisis de varianza para olor del colorante de mora	67
12	Prueba de Tukey al 5% para el atributo olor en cada tratamiento	68
13	Análisis de varianza para textura del colorante de mora	71
14	Prueba de Tukey al 5% para el atributo textura del colorante	72
15	Análisis de varianza para aceptabilidad del yogur	76
16	Prueba de Tukey al 5% para el atributo aceptabilidad	77
17	Análisis de correlación	80



## .. **ÍNDICE DE GRÁFICOS**

<b>Nº</b>	<b>DESCRIPCIÓN</b>	<b>PAG.</b>
1	Índice de madurez de la mora de castilla	8
2	Secador de bandejas	34
3	Diagrama de cromatografía en papel	40
4	Color, producto terminado	64
5	Interacción A×B en el color	65
6	Interacción A×C en el color	65
7	Interacción B×C en el color	66
8	Olor, producto terminado.	68
9	Interacción A×B en el olor	69
10	Interacción A×C en el olor	70
11	Interacción B×C en el olor	70
12	Textura, producto terminado	73
13	Interacción A×B en la textura	73
14	Interacción A×C en la textura	74
15	Interacción B×C en la textura	75
16	Aceptabilidad, producto terminado	77
17	Interacción A×B en la aceptabilidad del yogur	78
18	Interacción A×C en la aceptabilidad del yogur	79
19	Interacción B×C en la aceptabilidad del yogur	79
20	Espectrofotometría en colorante natural	85
21	Cromatografía de papel	88



## **I. INTRODUCCIÓN**

Los aditivos alimentarios desempeñan un papel muy importante en el complejo abastecimiento alimenticio de hoy en día. Nunca antes, ha existido una variedad tan amplia de alimentos, en cuanto a su disponibilidad en supermercados, tiendas, o cuando se come fuera de casa. Mientras que una proporción cada vez menor de la población se dedica a la producción primaria de alimentos, los consumidores exigen que haya alimentos más variados y fáciles de preparar, y que sean más seguros, nutritivos y baratos. Sólo se pueden satisfacer estas expectativas y exigencias de los consumidores utilizando las nuevas tecnologías de transformación de alimentos, entre ellas los aditivos, cuya seguridad y utilidad están avaladas por su uso continuado y por rigurosas pruebas. (Cubero, N. 2003).

Los colorantes, son sustancias que pueden tener un origen natural o artificial y que se usan para potenciar el color con el objetivo de mejorar su aspecto visual y poder dar respuesta a las expectativas del consumidor, debido a que el alimento ha sufrido pérdida de su color durante el tratamiento industrial o bien para hacerlo más atractivo durante su almacenamiento o para su consumo inmediato.

Los colorantes en la industria, especialmente en la alimentaria juegan un papel muy importante, ya que en estudios realizados se han establecido que el 80% de los alimentos está determinado por el color, luego el sabor y finalmente la textura. El color, es una de las cualidades sensoriales más importantes a la hora de aceptar o rechazar algunos alimentos procesados. Los aditivos naturales en la actualidad están en auge, ya que los artificiales como es el rojo 40 y amarillo 5 que han tenido complicaciones en lo referente a la salud de los consumidores. (Lock, O. 2007).

En la mora existe un porcentaje alto de antocianinas de gran interés en la industria alimentaria. Este colorante además de recuperar o mejorar el color de los alimentos transformados se ha demostrado que tiene efectos terapéuticos y beneficiosos para la salud como: anti cancerígenos, antidiabéticos y antioxidantes ya que estos atrapan o contrarrestan a los radicales libres que son nocivos para los seres humanos.

Las antocianinas se utilizan en la aplicación de bebidas, yogures, lácteos y mermeladas. Siendo poli fenoles, con posibles beneficios para la salud, su aplicación es normal en alimentos funcionales y saludables. (Lecker, A. 2011).

El yogur, desde el punto de vista nutricional es un excelente producto alimenticio de alto valor biológico, presenta un considerable enriquecimiento vitamínico, en especial del complejo B, además de la presencia de ácido láctico que aumenta la disponibilidad de micro-elementos como el calcio y fósforo, en el yogur la aplicación de este aditivo nos ayudará a cambiar sus propiedades organolépticas como se dijo anteriormente, para mejorar su aspecto visual debido al gran consumo que existe por la población, ya que los aditivos que se añaden al yogur en su mayoría son artificiales.

En la presente investigación se plantearon los siguientes objetivos:

- Determinar cuál de las dos variedades de mora aportan en mejores características para el colorante.
- Evaluar cuál de los métodos de extracción influyen en la obtención del colorante.
- Establecer el tiempo óptimo en el deshidratado del colorante para su obtención en polvo.
- Efectuar una caracterización bromatológica y organoléptica del mejor tratamiento.
- Realizar un análisis beneficio costo del producto.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1. CARACTERÍSTICAS DE LA MORA DE CASTILLA (*Rubus Glaucus*) CON ESPINAS

#### 2.1.1. Generalidades

En el cuadro N° 1, se muestra la taxonomía de la mora.

<b>Nombre científico</b>	<i>Rubus Glaucus benth.</i>
<b>Nombre Vulgar</b>	Mora, Zarzamora, Mora de castilla.
<b>Reino</b>	Vegetal
<b>Clase</b>	Angiospermae
<b>Subclase</b>	Dicotyledonae
<b>Orden</b>	Rosaea
<b>Familia</b>	Rosaceae
<b>Género</b>	Rubus
<b>Especie</b>	Glaucus

Fuente: (Martínez, V. 2008).

Es una planta de porte arbustivo, su fruto es un conjunto de frutas insertadas ordenadamente sobre un corazón blanco de forma cónica conocida como tálamo. El fruto posee cáliz (hojillas verdes).

La mora de castilla es una planta perenne, de porte arbustivo, semirrecto de tallos rastreros o semi-erguidos que forman macollas.

Los tallos son de longitud variable y se pueden ramificar, pueden tener o no aguijones; los tallos emiten constantemente brotes en la base. Las hojas son alternas, bordes aserrados, de color verde por encima y blanquecino por debajo.

Las flores son blancas de 2 a 2,5 centímetros (cm) de diámetro y se desprenden en racimos en las puntas de las ramas o a veces en toda la rama, los frutos alcanzan hasta 5 cm de largo siendo la especie más común en Chillanes. (Martínez, V. 2008).

### **2.1.2. Producción**

La mora de Castilla se encuentra entre 1200 y 2200 metros sobre el nivel del mar, las temperaturas fluctúan de 12 a 18 °C, sus frutos son de color morado brillante, largos y posee hojas con un haz verde-azuloso.

Es importante comercialmente y es la más cultivada, posiblemente se derive de plantas silvestres. El cultivo puede soportar heladas moderadas, los cultivos ubicados entre 2000 y 2500 metros sobre el nivel del mar presentan mejor productividad y menores problemas fitosanitarios.

La maduración del fruto como tal se inicia cuando este cambia de color y finaliza con la llamada madurez de consumo, en donde alcanza la plenitud de sus cualidades organolépticas o gustativas, a continuación presentamos el cuadro de composición de la mora.

Los productores de mora muy rara vez venden directamente la mora a los consumidores, esto se da por algunas razones. Una de ellas, es porque individualmente no producen grandes cantidades y muchas veces los consumidores como sería el caso de industrias de pulpas o mermeladas, requieren un suministro grande y constante. Otra razón por la cual no se comercializa directamente, es porque para vender productos en los mercados mayoristas, se requiere un puesto que se lo consigue pagando un arriendo mensual. Es por esto que existen personas que se dedican a comprar a los productores la mora y revender en los mercados, en el Cantón Chillanes en el año 2010 fue de 52,50 Ton de mora.

En el Ecuador se producen aproximadamente 7 mil TM/año, que abastecen al mercado nacional. Asimismo, se presenta las provincias de mayor producción de mora del país son: Bolívar, Tungurahua, Cotopaxi y de igual manera pero en menor cantidad en la provincia de Chimborazo. (MAGAP, 2008).



**Cuadro N° 2. Producción de mora por provincias**

<b>PRODUCCIÓN EN TONELADAS</b>			
<b>Provincias</b>	<b>Año 2006</b>	<b>Año 2007</b>	<b>Año 2008</b>
<b>Tungurahua</b>	448	1152	2152
<b>Bolívar</b>	1788	1729	1812
<b>Cotopaxi</b>	1120	1220	1200
<b>Pichincha</b>	252	318	324
<b>Imbabura</b>	131	244	231
<b>Chimborazo</b>	182	81	111
<b>Total</b>	3921	4744	5830

Fuente: (MAGAP, 2008.)

**Cuadro N° 3. Composición química de la mora de castilla, en 100g.**

<b>FACTOR</b>	<b>CANTIDAD</b>	<b>UNIDADES</b>
<b>Agua</b>	92,80	g
<b>Proteínas</b>	0,60	g
<b>Carbohidratos</b>	5,60	g
<b>Grasa</b>	0,10	g
<b>Fibra</b>	0,50	g
<b>Cenizas</b>	0,40	g
<b>Calcio</b>	42,00	mg
<b>Hierro</b>	1,70	mg
<b>Fósforo</b>	10,00	mg
<b>Tiamina</b>	0,02	mg
<b>Riboflavina</b>	0,03	mg
<b>Niacina</b>	0,50	mg
<b>Acido ascórbico</b>	8,00	mg

Fuente: (Ronald., *et al.* 2009)

Esta fruta posee nutrientes específicos que actúan sobre el organismo para tratar diferentes problemas de salud, como por ejemplo: estreñimiento, sobrepeso, hipercolesterolemia, etc. Para comprender cómo actúan las moras sobre la salud, es importante conocer cómo es su composición y principios activos.

### 2.1.3. Características físico-químicas

Las moras poseen cerca del 14% en sólidos, los cuales están equitativamente divididos entre formas solubles e insolubles. El tamaño del pireno y el desarrollo relativo de los tejidos suaves circundantes influye en la proporción de sólidos solubles e insolubles.

El sabor está determinado por el contenido de azúcares, ácidos y compuestos volátiles, los cuales varían de acuerdo con la variedad y las condiciones de crecimiento. Los principales azúcares son glucosa y fructuosa y en menor cantidad de sacarosa; estas forman el principal componente soluble del jugo. Los ácidos más importantes son el ácido málico y el ácido isocítrico, y en menor proporción el ácido cítrico.

Los ácidos tienen una gran capacidad de nivelación, que mantiene el pH cerca de 3. La mejor medida de la cantidad de ácido presente es, por consiguiente, acidez titulable. A medida que avanza el desarrollo de la fruta, esta cantidad se incrementa en primera instancia y luego decrece mientras que comienza la maduración.

Generalmente, la mora contiene pocas vitaminas, pero suministran gran cantidad de ácido ascórbico, vitamina E y buena cantidad de fibra. Tiene bajos contenidos de proteínas y polipéptidos, además de pocos aminoácidos.

**Cuadro N° 4. Composición general de la mora de castilla en 100 g.**

CARACTERÍSTICAS	ICBF	WINTON	HOLME
Humedad	93,3	94,00	92,00
Cenizas	0,40	0,50	0,50
Fibra bruta	--	--	--
Proteína bruta	0,60	0,92	0,56
Vitamina C	15,00	14,00	--
Fe	1,20	--	0,14
Ca	18,00	--	0,09
Grasa	0,10	--	0,02
Brix	7,80	8,30	9,90
Acidez	1,20	1,41	1,10

Fuente: (Ronald., *et al.* 2009)

Desde el punto de vista botánico, la mora es una fruta polidrupa, es decir, está formada por la unión de pequeñas drupas arracimadas (o en racimo), dentro de las que se halla una semilla diminuta, perceptible durante su consumo e incluso a veces algo molesta. De forma algo más alargada en las especies de *Morus*, y generalmente más redondeada en las de *Rubus* (aunque depende de la especie), *Rubus glaucus* presenta una forma levemente parecida al de la fresa (ancha por la base terminado en punta). La mora también tiene características físicas con un promedio entre ellos están la longitud, diámetro, densidad y el color de la fruta.

**Cuadro N° 5. Medidas físicas para la mora de castilla.**

MEDIDA	DIMENSIÓN
Longitud	3,59 cm
Diámetro	2,54 cm
Densidad de la fruta	1,038 g/ml
Color del fruto	Rojo oscuro

Fuente: (Ronald., *et al.* 2009).

Los cambios que se producen en la mora son producidos por los cambios fisiológicos naturales siendo esta fruta muy perenne su manejo pos cosecha debe ser muy cuidadoso manteniendo los estándares de calidad en cada fase.

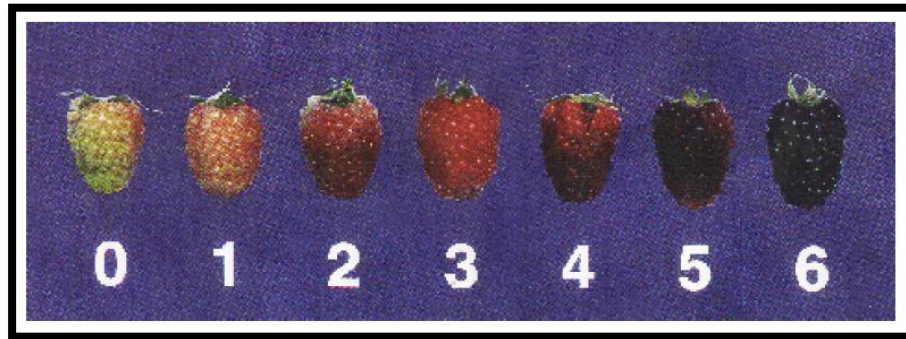
**Cuadro N° 6. Cambios ocurridos durante la maduración de la mora de castilla.**

PARÁMETRO	MADURA	PINTONA
pH	2,70	2,80
Grados Brix	7,50	8,20
% acidez (Ac. Cítrico)	2,90	2,40
Relación de madurez (brix/% acidez)	2,50	3,45
Solidos totales (%)	8,70	8,34
Viscosidad (cp.)	3,82	2,06

Fuente: (Galvis, J. y Herrera, A. 2008)

Para el análisis de la mora mediante el índice de madurez fisiológica mediante el color de la fruta es un método aprobado para su aplicación en el procesado de alimentos.

Gráfico N° 1, se muestra el índice de madurez fisiológica de la mora de castilla.



Fuente: (INEN 2427, 2011).

El crecimiento del fruto agregado de la mora, que cuando se expresa en base a peso fresco, La acumulación de materia seca es mucho mayor hacia la fase final del crecimiento. Los cambios de color y pigmentación, textura y composición química durante la fase de maduración. Sin embargo es muy poco lo que se conoce sobre los cambios químicos que se operan durante el crecimiento y maduración de la mora

## **2.2. CARACTERISTICAS DE LA MORA DE CASTILLA (*Rubus Glaucus*) SIN ESPINAS**

### **2.2.1. Generalidades**

Una nueva variedad de mora de castilla sin espinas fue desarrollada por los técnicos e investigadores del Programa Nacional de Fruticultura, del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP, 2010).

Este fruto tiene como característica el poseer mayores grados de brix (cociente total de sacarosa), un tamaño más grande y mejor productividad. Además, la ausencia de espinas facilita la cosecha.

Según los datos registrados durante la fase de experimentación, el nuevo producto tiene un rendimiento anual de 12 a 18 Kg por cada planta.

### Cuadro N° 7. Taxonomía de la mora.

<b>Nombre científico</b>	<i>Rubus Glaucus benth.</i>
<b>Nombre Vulgar</b>	Mora, Zarzamora, Mora de Castilla.
<b>Reino</b>	Vegetal
<b>Clase</b>	Angiospermae
<b>Subclase</b>	Dicotyledonae
<b>Orden</b>	Rosaea
<b>Familia</b>	Rosaceae
<b>Género</b>	Rubus
<b>Especie</b>	Glaucus
<b>Variedad</b>	Sin espinas

Fuente: (INIAP. 2010).

De acuerdo con las observaciones realizadas se pudo constatar que la mora sin espinas produce un macollamiento 15 a 20% superior a la mora con espinas, siendo en un 95% aproximadamente ramas productivas. (Clavijo, P. 2008).

El tamaño de la fruta alcanza longitudes de hasta 3,5 cm y diámetros de hasta 2,3 cm, en peso por fruto es de 7,5 a 8,5 g, el cual comparado con el de la mora con espinas resulta ligeramente mayor. Los frutos son de forma cónica, principalmente. La semilla es de forma coniforme, de superficie reticulada.

El alcance de esta producción dependerá del manejo que se le dé al cultivo, manifiesta Wilson Vásquez, responsable del programa de Fruticultura del INIAP.

La institución ha puesto énfasis en el manejo, riego y nutrición de la planta para obtener mejores resultados.

Con esta variedad se pueden generar entre 20 y 30 toneladas por hectárea al año, con contenidos de azúcar superiores a los 12 °Brix.

En el Ecuador, la mora de castilla se cultiva a una altitud de 1800 a 2800 m.s.n.m, en las provincias de Tungurahua, Cotopaxi, Pichincha, Imbabura, Carchi y Bolívar, en una extensión de 5200 hectáreas, que producen entre 12 y 14 toneladas al año. La mora se cosecha a nivel de pequeños productores, que se manejan por número de plantas, en un rango de 150 hasta 3000.

La nueva variedad, según indica Vásquez, se obtuvo a partir de una investigación de diversas variedades de huertos. Luego de dos años de estudios, en los cuales participaron técnicos de las estaciones experimentales de Santa Catalina y el Austro, se han logrado los resultados expuestos.

En el Ecuador ha aumentado la demanda de la fruta en 3%, y que la producción se destina tanto para la elaboración de conservas como para el consumo en producto fresco, por lo que es importante avanzar en el cultivo, que según el tipo de poda, puede ser de solo 6 a 7 meses o durante los 12 meses del año. (INIAP. 2010).

### **2.2.2. Mora para exportación**

Un avance logrado por los productores de mora, específicamente de Tungurahua, fue la exportación de la fruta a España.

Este proceso se dio hace dos años, cuando una empresa española buscó la fruta nacional y la recibió con gran agrado. (Vásquez, W. 2010).

### **2.2.3. Requerimientos agroecológico**

Ciclo vegetativo: Entre 3 y 8 años, inicio de producción 8 a 10 meses.  
Ecología del cultivo: Temperatura 10 a 18°C. Altitud: 1800 a 2400 m.s.n.m.  
Precipitación: de 1800 a 2000 mm/año. Suelos: Ricos en materia orgánica, textura franca con buena capacidad de retención de humedad, evitando encharcamientos. pH: 5.5 – 6.5.

## **2.3. Aditivo alimentario**

Un aditivo alimentario es toda sustancia que, sin constituir por sí misma un alimento ni poseer valor nutritivo, se agrega intencionadamente a los alimentos y bebidas en cantidades mínimas con objetivo de modificar sus caracteres organolépticos o facilitar o mejorar su proceso de elaboración o conservación. (INEN. 2011).

El Código Alimentario Español en 2006, define a los aditivos como las sustancias que pueden adicionarse de forma intencional a los alimentos y bebidas, sin intención de cambiar su valor nutritivo, con la finalidad de modificar sus características, técnicas de elaboración o conservación, o para mejorar su adaptación al uso a que se destinan.

Por su parte, el Codex Alimentarius Mundi de la Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y de la Organización Mundial de la Salud (OMS. 2009), indica que aditivo alimentario es cualquier sustancia (con valor nutritivo o sin él) que no se consume habitualmente como alimento ni se utiliza como ingrediente característico de este, se adiciona intencionalmente al alimento con una finalidad tecnológica (incluida la organoléptica) en la fabricación, preparación, tratamiento, envasado, transporte o conservación del alimento.

La Unión Europea (UE) señala, que se entenderá así mismo como aditivo alimentario toda sustancia que normalmente que no se consuma como alimento en sí mismo, y se use como ingrediente característico de los alimentos tenga o no valor nutritivo y cuya adición intencionada con un propósito tecnológico a un alimento durante su transformación. (FAO. 2006).

### **2.3.1. Justificación del uso de aditivos**

El uso de aditivos alimentarios está justificado únicamente si ello ofrece alguna ventaja, no presenta riesgos apreciables para la salud de los consumidores, no induce a error a éstos, y cumple una o más de las funciones tecnológicas establecidas por el Codex y los requisitos que se indican a continuación en los apartados a) a d), y

únicamente cuando estos fines no pueden alcanzarse por otros medios que son factibles económica y tecnológicamente:

a) Conservar la calidad nutricional del alimento; una disminución intencionada en la calidad nutricional de un alimento estaría justificada en las circunstancias indicadas en el subpárrafo b) y también en otras circunstancias en las que el alimento no constituye un componente importante de una dieta normal;

b) Proporcionar los ingredientes o constituyentes necesarios para los alimentos fabricados para grupos de consumidores que tienen necesidades dietéticas especiales;

c) Aumentar la calidad de conservación o la estabilidad de un alimento o mejorar sus propiedades organolépticas, a condición de que ello no altere la naturaleza, sustancia o calidad del alimento de forma que engañe al consumidor;

d) Proporcionar ayuda en la fabricación, elaboración, preparación, tratamiento, envasado, transporte o almacenamiento del alimento, a condición de que el aditivo no se utilice para encubrir los efectos del empleo de materias primas defectuosas o de prácticas (incluidas las no higiénicas) o técnicas indeseables durante el curso de cualquiera de estas operaciones. (FAO. 2006).

### **2.3.2. Buenas prácticas de fabricación (BPF)**

Todos los aditivos alimentarios regulados por las disposiciones del CODEX STAN 192 revisado hasta el año 2011, se emplean conforme a las condiciones de buenas prácticas de fabricación, que incluyen lo siguiente:

a) La cantidad de aditivo que se añada al alimento se limitará a la dosis mínima necesaria para obtener el efecto deseado;

b) La cantidad de aditivo que pase a formar parte del alimento como consecuencia de su uso en la fabricación, elaboración o envasado de un alimento y que no tenga por objeto obtener ningún efecto físico o técnico en el alimento mismo, se reducirá en la mayor medida que sea razonablemente posible;



c) El aditivo será de una calidad alimentaria apropiada y se preparará y manipulará de la misma forma que un ingrediente alimentario.

### **2.3.3. La utilización de los aditivos promueve**

Producción masiva.

Distancia de distribución.

Períodos de almacenamiento.

### **2.3.4. La utilización de los aditivos nos permite**

- Mantener/mejorar el valor nutricional.
- Conservar la frescura.
- Mejorar el color/sabor.
- Agilizar los procesos.

Los aditivos pueden contribuir substancialmente en la conservación de alimentos, se puede decir que los aditivos alimenticios deben ser utilizados para suplementar la efectividad de los métodos tradicionales de conservación de alimentos.

El uso de aditivos alimentarios para ventaja del consumidor puede ser justificado tecnológicamente cuando sirve a los siguientes propósitos:

- Mantenimiento de la calidad nutritiva del alimento.
- El aumento del mantenimiento de la calidad o estabilidad, dando como resultados una reducción en pérdidas de alimentos.
- Hacer atractivos los alimentos al consumidor de tal forma que no lleve al engaño.
- Proporcionar ayudas esenciales en el proceso de los alimentos. (Lock, O. 2007).

### **2.3.5. Los colorantes en los alimentos**

El uso de los colorantes sintéticos en la industria alimentaria es cada vez más estricto debido a la regulación para su uso, por los problemas de toxicidad, reacciones de intolerancia y alérgicas. Lo anterior ha favorecido el interés para obtener colorantes

de fuentes naturales, como posibles sustitutos de los colorantes sintéticos, ya que a la fecha no existe evidencia de su toxicidad en humanos.

Los colorantes son aquellas sustancias que restituyen o devuelven color a un alimento e incluyen componentes naturales de sustancias alimenticias y otras fuentes naturales que no son normalmente consumidos como alimentos por sí mismos y no son habitualmente utilizados como ingredientes característicos en alimentación.

Los procesos de fabricación de los colorantes, al ser éstos sustancias que se obtienen por métodos clásicos de síntesis orgánica en cantidades moderadas, se parecen a los procesos de síntesis en un laboratorio o una planta piloto que a los procesos de las grandes industrias orgánicas. Aunque la química que se utiliza no está tan depurada como la empleada en la industria farmacéutica. (Bolaños, N. 2001).

El consumo por aplicaciones es el siguiente:

- Industria textil: 60%.
- Pinturas y tintas (pigmentos): 25%.
- Resto de aplicaciones (papel, cuero, alimentos y otras): 15%.

No hay datos actualizados de producción mundial de colorantes.

### **2.3.6. Colorantes en la industria alimentaria**

Como ya se ha mencionado anteriormente, la normativa sobre su uso es mucho más estricta que en otras aplicaciones, y existen numerosos estudios sobre la toxicidad de los compuestos empleados. Para ello, en la UE existe una normativa común sobre su uso (Comité Científico de la Alimentación Humana), y en Estados Unidos (EEUU) existen organismos para el uso de colorantes y otros aditivos en alimentos, fármacos y cosméticos, etc. En la UE, los aditivos permitidos en alimentación se designan por la letra E y un código de identificación de tres cifras. La centena indica el tipo de aditivo y es:

1. Colorantes
2. Conservantes
3. Antioxidantes
4. Edulcorantes, Emulgentes, Estabilizadores, Espesantes y Gelificantes

La industria de los alimentos emplea colorantes con dos finalidades fundamentales:

- Restituir el color del alimento perdido en el proceso de elaboración.
- Hacer el alimento atractivo a través del color.

Las condiciones que se deben cumplir para que una sustancia pueda ser empleada como colorante alimentario son:

- Ser inocuo.
- Constituir una especie química definida y pura.
- Poseer una elevada absorción.
- Alta estabilidad frente a la luz, calor, pH, agentes oxidantes y reductores.
- Compatible con la sustancia a teñir.
- Económico.

Dentro de los colorantes, se pueden distinguir dos grandes grupos:

- Naturales: se encuentran presentes en la naturaleza, formando parte de vegetales, animales y minerales.
- Sintéticos. (Primo, E. 2003).

### **2.3.7. Colorantes alimentarios naturales**

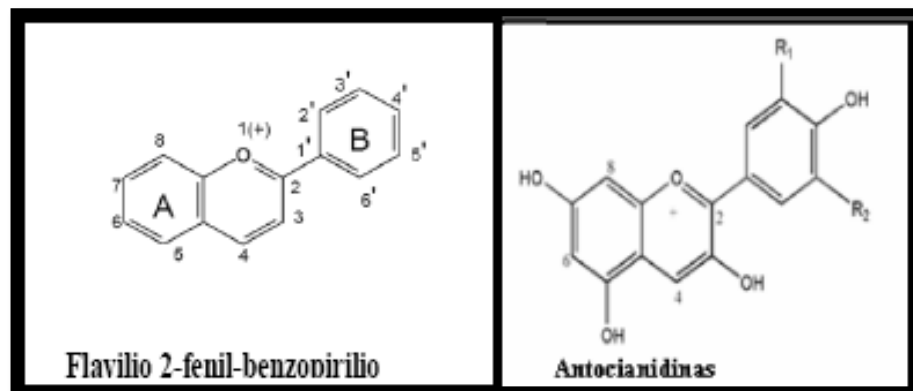
Son pigmentos coloreados que se encuentran en la naturaleza y que se extraen por diferentes métodos. Suelen ser muy sensibles a los tratamientos empleados en el procesado (calor, acidez, luz, conservantes). Principalmente se pueden distinguir los siguientes grupos:

### 2.3.8. Antocianos

Son glucósidos cuyos aglicones son las antocianidinas, derivados del catión flavilio (2-fenilbenzopirilio). Estas sustancias son las responsables de los colores rojos, azulados o violetas de las flores y frutas. Se suelen emplear poco en alimentación: derivados lácteos como yogur, helados, caramelos, pastelería, conservas vegetales y de pescado. (Primo, E. 2003).

Están constituidas por una molécula de antocianidina, que es la aglicona, a la que se une un azúcar por medio de un enlace  $\beta$ -glucosídico. La estructura química básica de estas agliconas es el ión flavilio también llamado 2-fenil-benzopirilio que consta de dos grupos aromáticos: un benzopirilio (A) y un anillo fenólico (B); el flavilio normalmente funciona como un catión.

Figura N° 1. Estructura de Flavilio y Antocianidina



Fuente: (Toledo, L. 2005).

La obtención de un colorante a partir de estos compuestos presentes en los frutos maduros de la mora de castilla (*Rubus Glaucus*) mejora las características físicas (color) de muchos productos; además, de poseer propiedades antioxidantes. (Toledo, L. 2007).

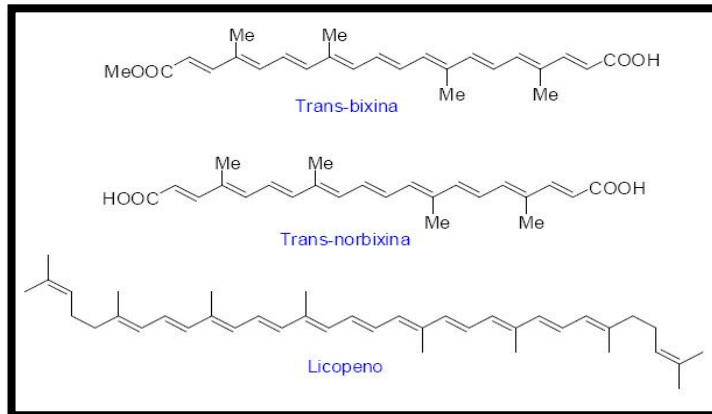
Xueming Liu y coautores en el Instituto de Investigación Sericultural, de la Academia de Ciencias Agrícolas Guangdong, de China, en 2004, desarrollaron un método barato e industrialmente posible de purificación de antocianinas de frutas de mora, dando colorantes rojos de alto valor colórico (arriba de 100). Encontraron que

31 cultivares chinos de mora testeados rindieron un total de antocianinas de 147,68 mg a 2725,46 mg/l de jugo de fruta. La extracción y purificación fue hecha usando etanol acidificado como solvente efluente y una resina macroporosa copolímera poliestirénica cruzada, como adsorbante. Los resultados indicaron que los azúcares totales, ácidos totales, vitaminas permanecieron intactos en el jugo residual después de remover las antocianinas, y que el jugo residual fuera fermentado para producir jugo, vino y jarabe. (Xueming, L. 2004).

### 2.3.9. Carotenoides

Son isoprenoides responsables del color amarillo y naranja de plantas y animales: zanahoria, tomates, salmón, etc. Se emplean para colorear el pimentón (bixina, norbixina), mantequilla (licopeno), bebidas refrescantes ( $\beta$ -caroteno para los refrescos de naranja). Su uso se está extendiendo frente a algunos colorantes artificiales.

Figura N° 2. Estructura de la bixina, norbixina y licopeno



Fuente: (Anaya, A. 2003)

### 2.3.10. Clorofilas

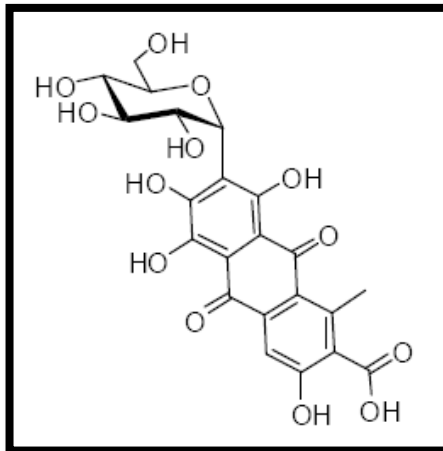
Son los pigmentos fotosintéticos de las plantas, responsables de su color verde. Están constituidas por un anillo de porfirina (un tetrapirrol) y una cadena denominada fitol. El anillo de porfirina también se encuentra en el grupo hemo de la hemoglobina y en la vitamina B<sub>12</sub>. Los nitrógenos pirrólicos se encuentran coordinados a un ión Mg<sup>2+</sup>. El interés fundamental por la clorofila en alimentación es evitar que se degrade

durante el procesado, ya que es sensible al calentamiento y se transforma en una sustancia marrón denominada feofitina. Como aditivo se emplea en aceites, chicles, helados, bebidas refrescantes.

### 2.3.11. Ácido carmínico o Cochinilla (E-120)

Es un colorante rojo extraído como complejo de  $Al^{3+}$  de la hembra de la cochinilla *Dactylopius coccus*, que habitan en los cactus. A pesar de que el colorante constituye el 20% del peso seco del insecto, hace falta 1 Kg de cochinillas para obtener 50 g de colorante. Se emplea en mermeladas, productos cárnicos, yogur, bebidas, cosmética (pintalabios). No se conocen efectos adversos.

Figura N° 3. Rojo cochinilla.

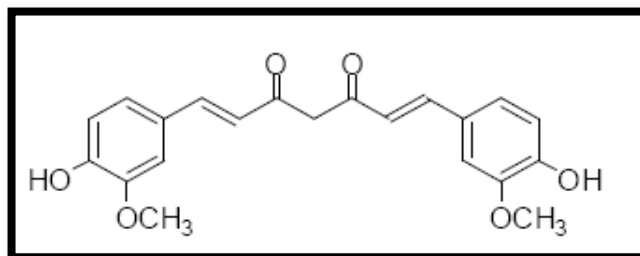


Fuente: (Gibaja, S. 2000)

### 2.3.12. Curcumina

Se trata de un polifenol de color amarillo extraído de la cúrcuma, y usado en la gastronomía hindú para el curri.

Figura N° 4. Curcumina.

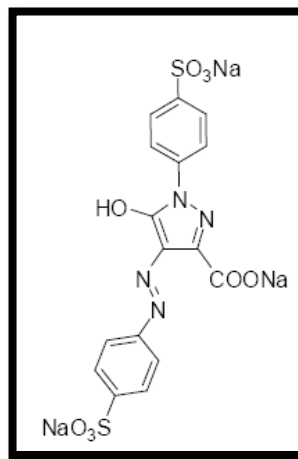


### 2.3.13. Colorantes alimentarios artificiales

#### 2.3.14. Colorantes azoicos

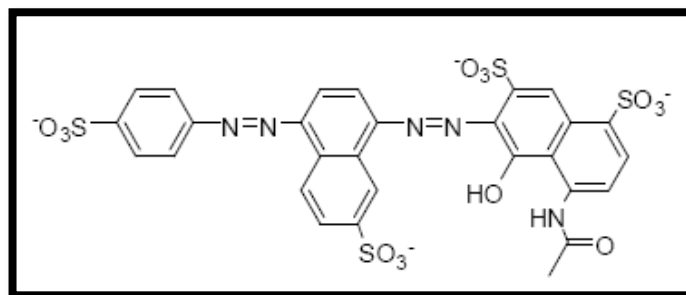
El más conocido es la tartracina (E-102), un colorante amarillo-anaranjado usado en más de 60 países. Se emplea en repostería, productos cárnicos, conservas, salsas, helados, golosinas. Es conocido como el azafrán artificial. El principal inconveniente son las reacciones alérgicas (1:10000), frecuentemente en personas alérgicas a la aspirina.

Figura N° 5. Tartracina.



Otro ejemplo es el negro brillante, usado en el sucedáneo de caviar. La legislación actual es muy estricta respecto al uso de colorantes azoicos en alimentación, debido a que algunos pueden generar, al descomponerse, aminas aromáticas cancerígenas.

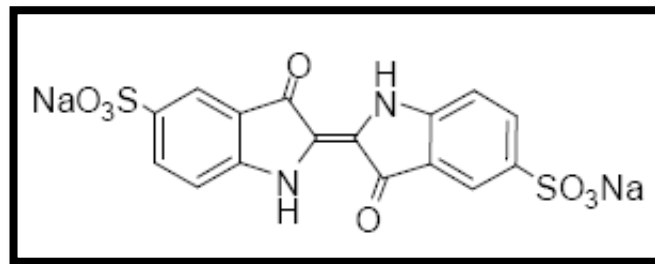
Figura N° 6. Negro brillante.



### 2.3.15. Colorantes indigoides

El ejemplo más característico es la indigotina, que se utiliza en refrescos de naranja, golosinas, confitería, helado. Como características principales cabe destacar que se absorbe muy poco y se elimina fácilmente a través de la orina. (Primo, E. 2003).

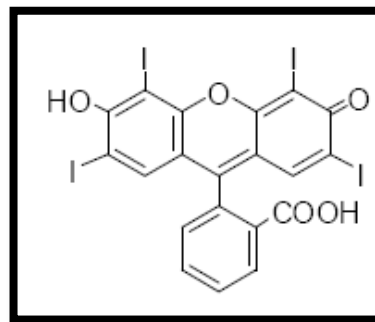
Figura N° 7. Indigotina



### 2.3.16. Eritrosina

Se emplea como colorante en los postres lácteos con aroma de fresa. Aunque se pensaba que podría actuar sobre el tiroides, por la presencia de los átomos de yodo, no está confirmado. En algunos casos produce hiperactividad e incrementa la sensibilidad frente a la luz del sol.

Figura N° 8. Eritrosina



Aunque existen directrices emitidas por la (U.E.) acerca del uso de colorantes en alimentación, cada país tiene una legislación propia acerca de estos aditivos; por ejemplo, en los países nórdicos, como Noruega, no está permitido prácticamente ningún aditivo alimentario.



## 2.4. LAS ANTOCIANINAS

El nombre antocianina se deriva de dos palabras griegas (*antos*, flor y *ciano*, azul oscuro) que significan planta azul. Son hidrosolubles, originan los colores rojo, azul, rosa y violeta de flores, frutas y verduras. Tienen características de glucósidos y están formados por una molécula de antocianidina (aglicona) unida a una fracción de carbohidrato. La estructura de las antocianidinas consiste en un grupo flavilio que a su vez está formado por una molécula de benzopirano unida a un anillo fenilico. (Cuevas, E. 2008).

Pueden donar hidrógenos, o electrones a los radicales libres o bien atraparlos y desplazados en su estructura aromática. Una actividad antioxidante óptima se relaciona con la presencia de grupos hidroxilos en las posiciones 3' y 4' del anillo B, los cuales confieren una elevada estabilidad al radical formado. Los grupos hidroxilos libres en las posición 3 del anillo C y en la posición 5 del anillo A, junto con el grupo carbonilo en la posición 4 son donadores de electrones. Entre los compuestos que han merecido dichos estudios se encuentran las antocianinas, debido a la presencia de sustituyentes -OH, los cuales son moléculas con alto poder antioxidante. (Cuevas, E. 2008).

Las antocianinas representan un factor muy importante en la industria alimenticia debido a las restricciones sanitarias hacia el uso de colorantes sintético. Adicionalmente estas sustancias poseen un valor agregado que es su capacidad antioxidante por esta razón se está creando un excelente mercado de exportación de frutas frescas con un alto contenido de antocianinas.

Las antocianinas representa un grupo muy amplio de compuestos fenólicos vegetales, estos son los pigmentos hidrosolubles rojos, azules y púrpuras de las flores, frutas y verduras.

### 2.4.1. Factores que afectan la estabilidad de las antocianinas

Referente a este tema que las antocianinas son solubles en medio acuoso, inestables frente a la luz, se degradan durante el almacenamiento, cambiando el color cuanto

más elevada sea la temperatura, en cambio, presentan buena estabilidad en medio ácido. Este tipo de pigmento es relativamente poco usado, teniendo uso en algunos lácteos, helados, caramelos, productos de pastelería y conservas vegetales. El conocimiento de la química de las antocianinas se puede utilizar para minimizar su degradación mediante la adecuada selección de los procesos y por selección de los pigmentos antocianicos que sean más adecuadas para la aplicación que se desea.

Las antocianinas presentan serios inconvenientes relacionados a su estabilidad, ya que en solución ellas son afectadas por la luz, cambios en pH, temperatura, oxidación, presencia de otros flavonoles y debido a la deficiencia electrónica del núcleo flavilio las antocianidinas tienden a reacciones que alteran su estructura. Su estabilidad se incrementa a mayor número de grupos metóxilos en el anillo B y decrece a mayor cantidad de grupos hidroxilos en la molécula. (Lincoln, E. 2006).

#### **2.4.2. Temperatura**

Los tratamientos térmicos influyen significativamente en la destrucción de las antocianinas; es así como se ha visto que en las fresas se presenta una relación logarítmica entre la pérdida de color y la temperatura. (Badui, D. 1993).

Dada su alta hidrosolubilidad, estos colorantes se pueden perder fácilmente por lixiviación en el agua que se utiliza en los diferentes tratamientos; a medida que aumenta la temperatura se acelera la decoloración de la fruta, ya que se favorece tanto la extracción que incluso se puede llegar a obtener productos prácticamente incoloros.

En general, las características estructurales que conducen a un aumento de la estabilidad del pH también llevan a la estabilidad térmica. Las antocianidinas altamente hidrolizadas son menos estables que las metiladas, glucosiladas o acetiladas. (Fennema, O. 2000).

#### **2.4.3. Iones metálicos**

Las antocianinas cambian de color cuando forman complejos, quelatos o sales con iones de sodio, potasio, calcio, magnesio, estaño, hierro o aluminio; por esta razón,

se recomienda que las latas que se empleen para los alimentos que contengan antocianinas, sean recubiertas por una laca protectora que evite el desprendimiento de los metales indeseables. (Badui, D. 1993).

#### **2.4.4. Efecto del pH sobre el color de las antocianinas**

Debido a una deficiencia del núcleo del flavilio, estos pigmentos funcionan como verdaderos indicadores de pH; es decir, su color depende de las condiciones de acidez o alcalinidad del sistema en que se encuentran: a pH ácido adquiere una estructura estable del catión flavilio de color rojo, representado por la fórmula ( $AH^+$ ); cuando se incrementa el pH, la distribución electrónica se modifica hasta llegar a la forma quinoidea azul (A) o base anhidra; tanto, la sal del flavilio como la base anhidra pueden convertirse a la base del carbinol incolora (B), que predomina en el intervalo de pH de 4 a 5.

La dependencia del color con el pH, y de la estabilidad cromática de los pigmentos de antocianinas tiene cierta importancia en el proceso de alimentos.

#### **2.4.5. Determinación de las antocianinas**

Existen distintas formas para determinar antocianinas ya sea en forma total o en forma separada cada antocianina. Si se quiere establecer las antocianinas en forma general muchos autores de diversos estudios utilizan el método de pH diferencial. Pero si se desea determinar las antocianinas en forma separada se recomienda utilizar cromatografía.

#### **2.4.6. Determinación de antocianinas de forma total**

La forma más utilizada para determinar antocianinas en forma total es la basada en diferencial de pH.

El contenido total de antocianinas en extractos crudos que contiene otros materiales fenólicos, que son determinadas por mediciones de absorción de la solución a una determinada longitud de onda. Esto es posible porque las antocianinas tienen una típica banda de absorción entre 490 y 550 nm en la región del espectro visible. Esta banda está lejos de la banda de absorción de otros fenoles, y tiene un máximo

espectro en el rango UV. En muchas instancias, sin embargo, este simple método es inapropiado por la interferencia de productos de degradación de antocianinas o melanoidinas de reacciones de pardeamiento. En ambos casos, el acercamiento debe ser usado para diferenciar y/o métodos sustractivos para cuantificar antocianinas y su producto de degradación. (Burriel, M. 2008).

## **2.5. Presentación de colorantes**

En la industria, el requerimiento de los colorantes ha sido básicamente en sus presentaciones en polvo, solubles en agua. Actualmente se han desarrollado presentaciones tales como la forma granular facilitando así su dosificación; la forma líquida donde el colorante se encuentra disuelto y finalmente las lacas que es el mismo colorante presentado como pigmento insoluble. (Arena, I. 2004).

## **2.6. Usos de los colorantes**

### **2.6.1. En alimentación**

La mayoría de los alimentos del mercado llevan colorantes artificiales. Su uso indiscriminado hace que los alimentos parezcan artificiales y el consumidor los rechazaría. A pesar de ello existen alimentos que son aceptados por las normativas internacionales y se ha investigado que si poseen colores llamativos pueden ser más aceptados por los consumidores que si no lo son. Tales son: yogures, caramelos, refrescos, alimentos para animales, gelatinas, helados, ciertos postres, cereales y panes, snack, salchichas (su superficie), condimentos para ensaladas. La industria de refrescos es la que más colorantes alimentarios emplea.

### **2.6.2. Fuera de la industria alimentaria**

Debido a que los colorantes alimentarios suelen ser más seguros de usar que los pigmentos y tintes artísticos normales, algunos artistas los usan para pintar sus obras, especialmente en variantes como la pintura corporal.

Los colorantes alimentarios pueden usarse para teñir tejidos, pero no suelen soportar bien el lavado cuando se usan sobre algodón, cáñamo y otras fibras vegetales.

Algunos colorantes alimentarios pueden ser fijados sobre nailon y fibras animales. (Biederman, J. 2002).

## **2.7. Clasificación de los colorantes**

Los colorantes se clasifican:

### **2.7.1. De acuerdo al color**

Cromáticos (rojo, naranja, amarillo, verde, azul, añil y violeta).

No cromáticos (blanco, negro, gris).

### **2.7.2. De acuerdo a su origen**

- Colorantes orgánicos: procedentes de plantas y animales. Son extraídos por diferentes métodos como fermentación, tostado, etc.
- Colorantes minerales: (lacas, sulfato de cobre, cromato de plomo, etc.). No se utilizan en alimentos.
- Colorantes artificiales: obtenidos por síntesis química.

### **2.7.3. De acuerdo con la Norma Técnica Colombiana (NTC-409) la clasificación según su origen es:**

Colorantes naturales: caramelo y compuestos de clorofila y clorofilina.

Colorantes sintéticos: de acuerdo con la solubilidad los colorantes se dividen en:

- Hidrosolubles
- Insolubles

## **2.8. Clasificación según las propiedades y el modo de aplicación**

Según sus propiedades y los modos de aplicación en el teñido de fibras, los colorantes se subdividen en colorantes directos, colorantes ácidos, básicos, y colorantes reactivos, entre otros tipos. Se trata de una clasificación más técnica y menos científica que la anterior.

### **2.8.1. Colorantes directos**

Se aplican por simple inmersión del sustrato en una solución del colorante, neutra y caliente, a la cual se le ha añadido un electrolito. Se utilizan fundamentalmente para teñir fibras celulósicas, naturales o sintéticas (algodón, lino o rayón). El colorante se fija a la fibra a través de enlaces por puente de hidrógeno, por lo que tiene que ser una molécula lineal o plana, relativamente larga, y con capacidad para formar puentes de hidrógeno con los grupos hidroxilo de la celulosa. La mayoría de ellos son colorantes azoicos con varios grupos azo. (NTC. 2010).

### **2.8.2. Colorantes dispersos**

Son colorantes insolubles en agua que se aplican utilizando dispersiones coloidales del colorante en agua. Se usan para colorear fibras acrílicas, poliamidas, poliésteres y fibras de acetato de celulosa. Las partículas del colorante, precipitadas, se adhieren a la fibra mediante interacciones dipolares. Este tipo de coloración suele ser poco estable en el lavado, o incluso puede sublimar en el planchado; además, es poco estable frente al ozono y el NO<sub>2</sub> (decoloración gaseosa). Los colorantes más usados por este procedimiento son colorantes de antraquinona con grupos amino e hidroxilo como auxocromos. (Contento, A. 2005).

### **2.8.3. Colorantes ácidos o básicos**

Los colorantes ácidos (aniónicos) o básicos (catiónicos) se usan para teñir sustratos que tienen grupos ácidos con carga positiva o grupos básicos con carga negativa, respectivamente.

### **2.8.4. Colorantes reactivos**

Los colorantes reactivos fueron introducidos en el mercado en 1955, hecho que constituyó el mayor avance en teñido desde la Segunda Guerra Mundial. Se fijan al tejido mediante la formación de enlaces covalentes, lo que los hace muy resistentes al lavado.

Para el teñido de la celulosa y sus derivados por este procedimiento, se usa un colorante, al que se le exige como única condición que posea un grupo amino o un grupo hidroxilo, que se hace reaccionar previamente con triclorotriazina. La sustancia intermedia que así se forma puede reaccionar, a través de los átomos de cloro que aún le quedan, con los grupos hidroxilo de la celulosa, convertidos en grupos alcoholatos por tratamiento con una base. El colorante queda así unido a la fibra mediante un puente de triazina

## **2.9. Colorantes naturales más utilizados en la industria alimenticia**

E-100 Curcumina

E-101 Riboflavina

E-120 Cochinilla, ácido carmínico

E.150 Caramelo

E-153 Carbón medicinal vegetal

E-160 Carotenoides

E-160 a Alfa, beta y gamma caroteno

E-160 b Bixina, norbixina (Rocou, Annato)

E-160 c Capsantina, capsorrubina

E-160 d Licopeno

E-160 e Beta-apo-8'-carotenal

E-160 f Ester etílico del ácido beta-apo-8'-carotenoico

E-162 Rojo de remolacha, betanina, betalaína

E-163 Antocianos (Contento, A. 2005).

## **2.10. Estabilidad en los alimentos**

El núcleo flavino de los pigmentos de antocianina es deficiente en electrones y, por lo tanto, muy reactivo. Las reacciones ordinarias comprenden la decoloración de los pigmentos y son casi siempre no deseables en el procesado de frutas y hortalizas. La velocidad de la destrucción de las antocianinas depende del pH y es rápida a valores de pH elevados. La velocidad de reacción depende también de la cantidad de pigmento existente en forma de base cardinol incolora y es dependiente de la temperatura. (Meschter, D. 2005), ha calculado que la vida media del colorante de las moras en conserva es de 1300 horas a 20°C y de 248 horas a 38°C la reactividad de la molécula de antocianina con el aire y con muchos de los componentes normalmente presentes en las frutas y hortalizas ha dado lugar a muchos estudios sobre la estabilidad de las Antocianinas. (Contento, A. 2005).

## **2.11. TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN**

### **2.11.1. Extracción de colorantes**

Se han desarrollado diferentes métodos para llevar a cabo los procesos de separación, existen distintas operaciones unitarias para llevar a cabo esta finalidad. En la práctica, se presentan muchos problemas de separación teniendo el ingeniero que elegir el método que mejor se adapte a la resolución. Los procedimientos para separar los compuestos de una mezcla se clasifican en dos grupos, el que constituye las denominadas operaciones disfuncionales, que implica cambio de fase o transporte de materia de una fase a otra; y, el que comprende a aquellos métodos llamados separaciones mecánicas, útiles para separar partículas sólidas o gotas líquidas. (Leyva, D. 2009).

### **2.11.2. Extracción y Lixiviación**

Es un proceso de separación de un constituyente a partir de un sólido o un líquido por medio de un disolvente líquido. Estas técnicas comprenden dos categorías: sólido - líquido, y líquido - líquido.



## **2.12. Otros métodos para obtención de colorantes son:**

Prensado

Maceración

Extracción líquido – líquido con solvente

Destilación por arrastre de vapor

### **2.12.1. Prensado**

El prensado es la separación de un líquido mediante la compresión en condiciones que permitan que el líquido se escape al mismo tiempo que retiene el sólido, en la superficie de compresión. El experimento se diferencia de la filtración, en que la presión se aplica mediante el movimiento en las paredes de retención en vez de emplear el bombeo del material a un espacio fijo, los dos tienen la misma finalidad en separar líquidos de sólidos de una mezcla mecánica de los dos.

Hay diferentes equipos de prensado: caja de placas, de olla, de guarnición y jaula y prensas continuas. Como estos equipos son costosos y no disponemos de ellos, utilizamos un método manual de extracción.

### **2.12.2. Maceración**

La maceración es un proceso de extracción sólido-líquido. El producto sólido (materia prima) posee una serie de compuestos solubles en el líquido extractante que son los que se pretende extraer.

En general en la industria química se suele hablar de extracciones; mientras que, cuando se trata de alimentos, hierbas y otros productos para consumo humano se emplea el término maceración. En este caso el agente extractante (la fase líquida) suele ser agua, pero también se emplean otros líquidos como vinagre, jugos, alcoholes o aceites aderezados con diversos ingredientes que modificarán las propiedades de extracción del medio líquido.

### **2.12.3. Maceración en frío**

Consiste en sumergir el producto a macerar en un líquido y dejarlo una determinada cantidad de tiempo, para transmitir al líquido características del producto macerado. Los productos a macerar son varios, y en la gastronomía se puede destacar la infusión de especias varias en aceite de oliva virgen extra, concediendo a estos últimos aromas y paladares propios de las especias maceradas. Son especialmente recomendados para ensaladas y platos fríos.

También se podrá añadir a un recipiente con la menor cantidad de agua posible, sólo lo suficiente como para cubrir totalmente lo que se desea macerar. Esto se hace por un lapso más o menos largo, dependiendo de lo que se vaya a macerar.

La ventaja de la maceración en frío consiste en que al ser sólo con agua se logran extraer todas las propiedades de lo que se macera; es decir, toda su esencia sin alterarla en lo más mínimo. (García, M. 2003).

### **2.12.4. Maceración con calor**

El proceso a ejecutar en este tipo de maceración es el mismo que en la maceración en frío, sólo que en este caso puede variar el medio por el cual se logra la maceración. El tiempo que se desea macerar varía mucho de la maceración en frío ya que al utilizar calor se acelera el proceso tomando como referencia que 3 meses de maceración en frío, es igual a 2 semanas en maceración con calor, esto es en el caso de las plantas y hierbas medicinales.

La desventaja de la maceración en calor es que no logra extraer totalmente pura la esencia o principios activos del producto a macerar, ya que siempre quema o destruye alguna pequeña parte de esta (muchas veces se trata de compuestos termolábiles).

Pero muchas veces, para acortar más los tiempos de extracción y que las sustancias pasen el menor tiempo posible a elevadas temperaturas, se hacen extracciones con corriente de vapor.

### **2.12.5. Extracción con solvente**

Es la disolución de uno o más componentes de una mezcla sólida por contacto de un disolvente líquido. Esta operación unitaria, una de las más antiguas en la industria química, ha recibido muchos nombres, según la técnica más o menos completa utilizada para llevar a cabo. El término extracción también se emplea por lo común para describir esta operación, aunque también se aplica a todas las técnicas de separación que utilicen métodos de transferencia de masa. Es un proceso para separar un sólido de un líquido en el cual muchas sustancias biológicas, así como compuestos inorgánicos y orgánicos existentes en mezclas de diferentes compuestos en un sólido. Para poder superar el constituyente soluto deseado o eliminar un soluto indeseable de la fase sólida, esta se pone en contacto con la fase líquida. Ambos factores entran en contacto íntimo en el soluto o solutos que pueden difundirse o desde el sólido de la fase líquida, lo que produce una separación de los compuestos originales del sólido a este proceso se llama lixiviación, extracción sólido - líquido o simplemente lixiviación. (Leyva, D. 2009).

### **2.12.6. Destilación por arrastre de vapor.**

Es una técnica bastante utilizada para separar compuestos poco volátiles insolubles en agua, de materiales sólidos no volátiles.

### **2.12.7. Deshidratación.**

La deshidratación es un método de estabilización de alimentos que se basa en la reducción de la actividad del agua ( $a_w$ ) para hacer más lentos los procesos de deterioro a los que se ve sometido un alimento. Se distingue muy claramente de la concentración o evaporación porque, aunque ambas operaciones se basa en disminuir la actividad del agua, la concentración y evaporación da productos líquidos, que aun contienen cantidades del orden de hasta el 50% en agua. Los productos de la deshidratación son sólidos con un contenido en agua inferior al 10%.

Utilizamos el término genérico “deshidratación” porque durante esta operación no solo se retira el agua que actúa como disolvente o inerte que diluye el alimento, sino

que se retira agua que entra en la constitución de las estructuras y tejidos del alimento. Por ello, la deshidratación provoca a menudo profundos cambios en las cualidades organolépticas de los alimentos, por lo que no es adecuada para muchos alimentos.

Todas las operaciones de deshidratación tienen en común la pérdida de agua. Sin embargo, esta pérdida se puede realizar de diversas formas.

En el secado por arrastre la retirada de agua se realiza poniendo el alimento en contacto con un medio, normalmente aire, relativamente seco (es decir, que tiende a retirar agua del alimento). Este medio se renueva lo suficiente a menudo para que el secado prosiga hasta el grado de deshidratación deseado. Puesto que para una misma humedad absoluta el aire resulta relativamente más seco cuanto más se incrementa la temperatura, el secado por arrastre es a menudo realizado con un chorro de aire caliente.

Esta operación tiene unos requerimientos energéticos de unas  $600 \text{ Kcal kg}^{-1}$  de agua evaporada. En el secado por arrastre, esta energía es aportada normalmente por el agente de arrastre (aire seco y caliente normalmente) que cede su calor sensible a la vez que se carga de humedad. Cuando el agente de secado aporta todo el calor necesario para la vaporización, tenemos un secadero adiabático. Esta condición tiene importancia en el diseño. (Maupoey, P. 2001)

La liofilización es una deshidratación donde la retirada de agua tiene lugar por sublimación, sometiendo al alimento a condiciones de temperatura inferiores a las del punto triple. La liofilización es lenta y cara, ya que requiere una atmósfera de alto vacío, pero la ausencia de aire y el frío al que está sometido el alimento durante la mayor parte del tiempo del proceso hace que se obtengan alimentos de muy buena calidad que se rehidratan con suma facilidad. La sublimación requiere unos  $700 \text{ Kcal kg}^{-1}$  de agua. En la vaporización y sublimación el cambio de fase es espontáneo en las condiciones del entorno.

En el secado por arrastre el cambio de fase es forzado por la constante renovación de la atmósfera que rodea al alimento con aire relativamente seco. Si el aire no se renovase, rápidamente se llegaría a la humedad de equilibrio y el secado cesaría.

Aunque lo importante para una buena conservación es una baja actividad del agua, puede decirse en general que una humedad por debajo del 10% hace inactivos a microorganismos y enzimas, aunque es necesario bajar la humedad por debajo del 5% para conservar las cualidades nutricionales y organolépticas de los alimentos.

Algunos alimentos son estables con esta humedad (como la harina, con un 8 % de humedad, muchos frutos secos, pasta, entre otras). (Jarrin, J. 2007).

Finalmente, resaltar que el secado además de una buena operación de conservación, presenta una gran ventaja para la comercialización de los productos, ya que al haber retirado una gran parte del agua los productos se reduce en peso y tamaño siendo más fáciles de almacenar y transportar.

## **2.13. MÉTODOS DE SECADO**

La selección de la técnica para el secado depende del tipo de alimento y los costos del proceso.

### **2.13.1. Técnicas de secado**

Se tienen las siguientes técnicas de secado:

- Deshidratación con aire caliente.
- Deshidratación por contacto con una superficie caliente.

### **2.13.2. Deshidratación con aire caliente**

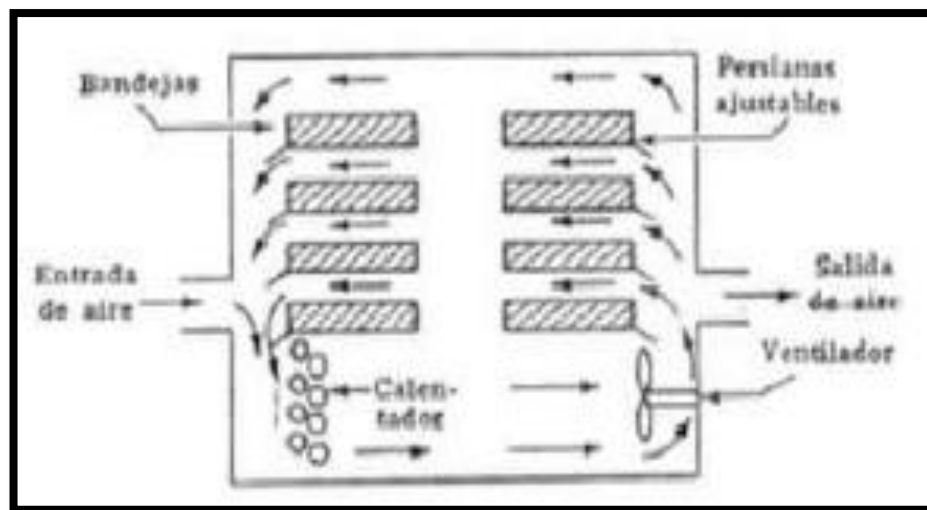
En este proceso se presenta una transferencia de calor por convección y un contacto directo de la sustancia con el aire caliente en el cual tiene lugar la evaporación.

Para que el proceso de secado se realice en forma eficiente se requiere establecer las condiciones básicas del proceso como son: temperatura, humedad relativa del aire de secado, flujo de aire, tamaño y forma del producto.

### 2.13.3. Deshidratador de bandejas o anaqueles

Los secadores de bandeja son de pequeña escala usados en laboratorios y plantas piloto para experimentar con el secado de diversos materiales. El aire ingresa por el extremo izquierdo del secador gracias al arrastre que genera el ventilador, el cual a su vez es movido por un motor. Una vez ingresa el aire, pasa a través de una serie de resistencias eléctricas en donde se calienta disminuyendo así su humedad relativa y adquiriendo, de esta forma, su condición secante.

Gráfico N° 2. Secador de bandejas



Fuente: (Jarrin, J. 2007).

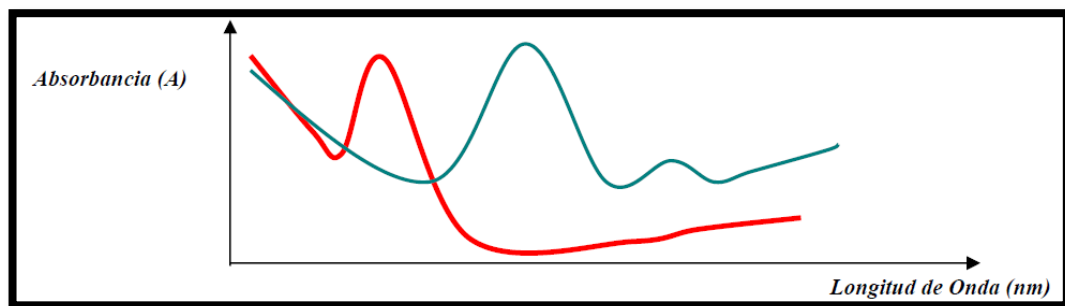
## 2.14. FUNDAMENTOS DE ESPECTROFOTOMETRÍA

La espectrofotometría es uno de los métodos de análisis más usados, y se basa en la relación que existe entre la absorción de luz por parte de un compuesto y su concentración. Cuando se hace incidir luz monocromática (de una sola longitud de onda) sobre un medio homogéneo, una parte de la luz incidente es absorbida por el medio y otra transmitida, como consecuencia de la intensidad del rayo de luz sea atenuada desde  $P_0$  a  $P$ , siendo  $P_0$  la intensidad de la luz incidente y  $P$  la intensidad

del rayo de luz transmitido. Dependiendo del compuesto y el tipo de absorción a medir, la muestra puede estar en fase líquida, sólida o gaseosa. En las regiones visibles y ultravioleta del espectro electromagnético, la muestra es generalmente disuelta para formar una solución.

Cada sustancia tiene su propio espectro de absorción, el cual es una curva que muestra la cantidad de energía radiante absorbida, Absorbancia, por la sustancia en cada longitud de onda del espectro electromagnético, es decir, a una determinada longitud de onda de la energía radiante, cada sustancia absorbe una cantidad de radiación que es distinta a la que absorbe otro compuesto

Fig. 9. Espectro de absorción de dos compuestos diferentes.

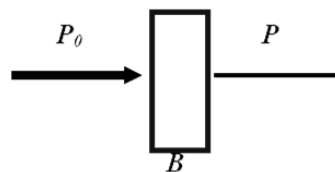


Fuente: (Burriel, M. 2008).

### 2.14.1. Ley de Lambert.

Esta ley establece que cuando pasa luz monocromática por un medio homogéneo, la disminución de la intensidad del haz de luz incidente es proporcional al espesor del medio, lo que equivale a decir que la intensidad de la luz transmitida disminuye exponencialmente al aumentar aritméticamente el espesor del medio absorbente.

Ley de Lambert



La siguiente relación matemática da cuenta de esta ley:  $P / P_0 = e^{-kb}$

$P_0$ : Intensidad de la luz incidente

$P$ : Intensidad de la luz transmitida

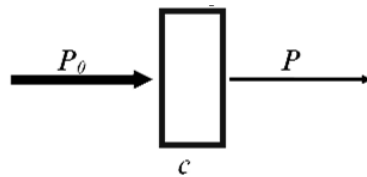
$b$ : Espesor del medio absorbente

$k$ : Constante, cuyo valor depende de la naturaleza del soluto, de la longitud de onda de la luz incidente, del espesor del medio absorbente y de la naturaleza del medio.

### 2.14.2. Ley de Beer.

La intensidad de un haz de luz monocromática disminuye exponencialmente al aumentar aritméticamente la concentración de la sustancia absorbente, cuando este haz pasa a través de un medio homogéneo.

Ley de Beer



La relación matemática que da cuenta de esta ley se muestra a continuación:

$$P / P_0 = e^{-k \cdot c} \text{ dónde:}$$

$P_0$ : Intensidad de la luz incidente

$P$ : Intensidad de la luz transmitida

$c$ : Concentración de la solución

$k$ : Constante, cuyo valor depende de la naturaleza del soluto, de la longitud de onda de la luz incidente, de la concentración de la solución, y frecuentemente, de la naturaleza del medio. (Burriel, M. 2008).

Ambas leyes se combinan en una sola, generando la Ley de Lambert-Beer

$$\log P_0 / P = a b c$$

ó

$$A = a b c$$



$$A = \log P_0 / P = - \log T$$

Dónde:

**a:** Absortibilidad

**b:** Longitud o espesor del medio (longitud de la cubeta)

**c:** Concentración de la solución

$P/P_0 = T =$  Transmitancia

Los términos absorbancia y transmitancia son definidos a continuación

### 2.14.3. Transmitancia (*T*)

Es la razón entre la luz monocromática transmitida (***P***) por una muestra y la energía o luz incidente (***P<sub>0</sub>***) sobre ella. Tanto la energía radiante incidente como la transmitida deben ser medidas a la misma longitud de onda.

$$T = P / P_0 = 10^{-abc} \quad \text{ó} \quad \%T = 100 P / P_0$$

Se acostumbra a considerar la transmitida como la razón de la luz transmitida por la muestra y la luz transmitida por un estándar arbitrario. Este estándar puede ser el líquido (solvente) en que esta disuelta la muestra, aire, blanco analítico (solución que contiene todos los componentes de la solución problema menos la sustancia problema) u otra sustancia elegida arbitrariamente.

Debido a que la transmitancia de este estándar no es necesariamente 100%, es necesario especificar el estándar con el cual la muestra es comparada.

### 2.14.4. Absorbancia (*A*)

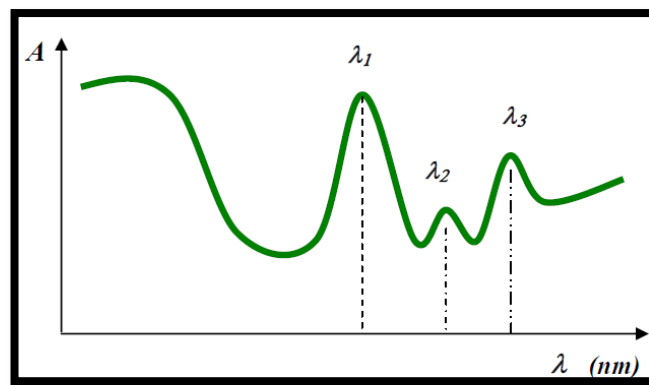
Se define como la cantidad de energía radiante absorbida por una sustancia pura o en solución. Matemáticamente, corresponde al logaritmo negativo de la transmitancia (***T***), transmitancia expresada como fracción decimal (***%T***), transmitancia expresada como porcentaje.

$$A = -\log T = 2 - \log \%T$$

#### 2.14.5. Selección de longitud de onda de trabajo.

La longitud de onda de trabajo corresponde, generalmente, a la longitud de onda en la cual la absorbancia del analito (sustancia a analizar) es máxima, y recibe la denominación de Lambda máximo ( $\lambda_{\max}$ ). Para seleccionar el  $\lambda_{\max}$ , se hace un espectro de absorción o curva espectral, y que consiste en una gráfica de la absorbancia de una solución de la sustancia absorbente de concentración adecuada, medida a distintas longitudes de onda y en ella se determina el  $\lambda_{\max}$ . (Díaz, A., *et al.* 2007).

Fig. 10. Curva espectral



Fuente: (Díaz, A., *et al.* 2007).

#### 2.15. CROMATOGRAFÍA

La cromatografía es una técnica de separación de solutos de una mezcla, que se basa en la diferente velocidad con que se mueve cada uno de los solutos a través de un medio poroso, arrastrados por un disolvente en movimiento. A este disolvente se le llama fase móvil y el medio poroso puede ser la fase estacionaria, o bien servir de soporte a esta fase. La separación cromatográfica constituye un proceso dinámico que permite un intercambio continuo por desplazamiento de una fase con respecto a la otra. El diferente reparto de solutos entre las fases móvil y estacionaria es la causa de la separación de los solutos. El soluto que tiene mayor afinidad por la fase estacionaria se moverá con mayor lentitud. (Burriel, M. 2008).

### **2.15.1. La cromatografía en papel.**

La cromatografía en papel se utiliza para la separación de cantidades mínimas de soluto y también como un criterio de pureza. Se basa en la diferente velocidad con que se mueve cada uno de los solutos a través de una fase estacionaria que es el agua retenida sobre un soporte sólido e inerte (celulosa), arrastrado por un disolvente en movimiento. Una vez realizada la cromatografía, la posición de los componentes se determina mediante una técnica que permita “visualizarlos”.

La cromatografía en papel es un proceso muy utilizado en los laboratorios para realizar unos análisis cualitativos ya que pese a no ser una técnica muy potente no requiere de ningún tipo de equipamiento.

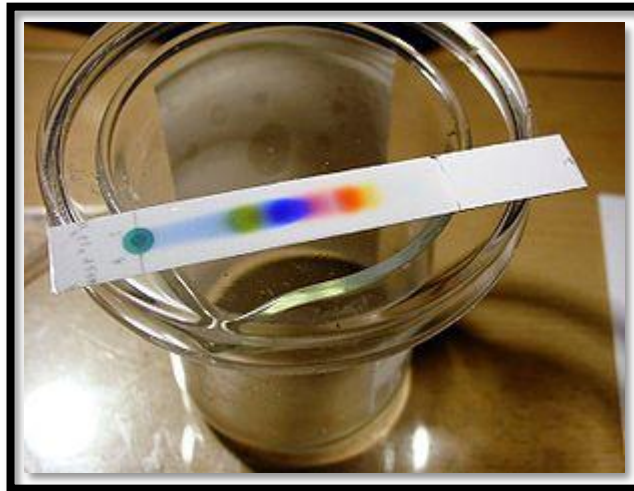
La fase estacionaria está constituida simplemente por una tira de papel filtro. La muestra se deposita en un extremo colocando pequeñas gotas de la solución y evaporando el disolvente. Luego el disolvente empleado como fase móvil se hace ascender por capilaridad. Esto es, se coloca la tira de papel verticalmente y con la muestra del lado de abajo dentro de un recipiente que contiene fase móvil en el fondo.

Después de unos minutos cuando el disolvente deja de ascender o ha llegado al extremo se retira el papel y se seca. Si el disolvente elegido fue adecuado y las sustancias tienen color propio se verán las manchas de distinto color separadas. Cuando los componentes no tienen color propio el papel se somete a procesos de revelado.

Como en la cromatografía de capa fina, se puede emplear unas técnicas elaboradas y sencillas en la cromatografía sobre papel. La técnica más sencilla implica el uso de un tubo de ensayo como cámara de desarrollo. El método se recomienda para la mayoría de los trabajos de identificación o por lo menos en los trabajos previos de exploración en la determinación de las condiciones para usar tiras largas u hojas.

Se puede usar un tubo de 6 a 8 cm. La tira, cortada de un papel de filtro Whatman núm. 1, se coloca dentro del tubo, suspendiéndola de un alfiler clavado en el tapón, doblándola en ángulo o bien cortando el papel con mayor anchura en la parte más alta que sirve para evitar su descenso por el tubo. Tocar el papel solo por el extremo superior, de otro modo, las huellas de los dedos podrían contaminar el cromatograma. (Burriel, M. 2008).

Gráfico N° 3. Diagrama de cromatografía en papel.



Fuente: (Contento, A. 2005)

Hacer una marca con lápiz cerca de 1 cm de la parte de la tira. La muestra se aplica en forma de pequeña mancha con una micropipeta, en el centro de la línea y se deja secar. La magnitud de la muestra debe ser de unos 10  $\mu\text{g}$ . con una pipeta se coloca una pequeña cantidad de disolvente en el fondo del tubo, de modo que la superficie del disolvente quede por debajo de la línea del lápiz. El tubo se cierra y se deja reposar hasta que el disolvente ascienda hasta las proximidades de lo alto de la tira de papel. Pueden ser necesarias unas 3 horas. Luego se saca el papel y se señala el nivel alcanzado por el disolvente. La tira se deja secar y los compuestos se visualizan con un rociado apropiado.

### 2.15.2. Factor de recorrido (Rf).

Se define Rf como el cociente entre la distancia recorrida por una sustancia desde el origen (d) y la distancia del origen al frente del disolvente (h). Para la sustancia A:

$$RfA = dA/h$$

El valor máximo que puede tener el Rf es 1, aunque a veces se multiplica por 100 para expresarlo como porcentaje.

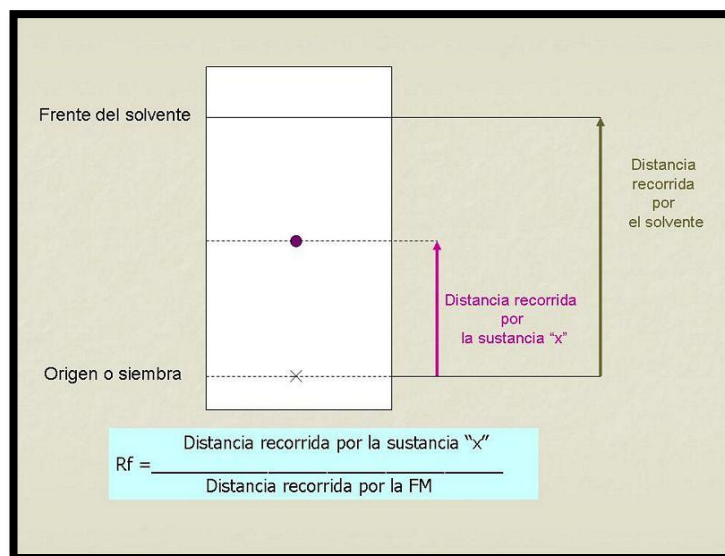
El Rf es una cifra útil porque es constante cuando se reproduce el experimento en todas las condiciones y es tan característico y descriptivo de un compuesto como puede serlo el punto de fusión. Por supuesto, el Rf de un compuesto dado será diferente para distintos disolventes, pero ello constituye una ventaja, puesto que así es posible caracterizar a un compuesto más específicamente registrando sus Rf en varios disolventes.

Algunos factores que afectan al Rf son: el grado de pureza del adsorbente, la concentración del ambiente de la cámara y la temperatura.

Si se va a utilizar un cromatograma para hallar el Rf, hay que marcar siempre (con lápiz y nunca con tinta) dos líneas o puntos: lugar donde se deposita la muestra e, inmediatamente realizado el cromatograma, el frente del disolvente.

Se define como el cociente de dividir el recorrido de la sustancia por el del disolvente, o sea la distancia que media desde el origen hasta el centro de la mancha (X) dividida por la distancia que media desde el origen hasta el frente del disolvente (S).  $Rf = X/S$ .

Figura N° 13. Factor de rotación



Fuente: (Contento, A. 2005)

Inicialmente, la extracción de antocianinas se utilizaron tres sistemas de extracción: agua, etanol (96%), metanol.

El cálculo de un  $R_f$  (Rate factor o factor de velocidad) es muy sencillo. Es un parámetro que mide o evalúa la cantidad que se ha desplazado un determinado componente con respecto al eluyente:

$$R_f = \text{longitud compuesto} / \text{longitud eluyente}$$

El etanol es la fase móvil que ira ascendiendo por el papel filtro arrastrando los compuestos que hemos aplicado. Cuando el frente haya ascendido hasta la franja superior paramos el experimento y observaremos los resultados.

Una vez aplicados se insertara la placa dentro de la cubeta, la cual contiene etanol 96%. La cantidad de etanol no puede ser cualquiera, el volumen de este no puede sobrepasar la franja de aplicación. Desde el momento en que la fase estacionaria es introducida en la cubeta podemos observar como la fase móvil asciende por la estacionaria debido a la capilaridad de la segunda. Una vez el frente de la fase móvil ha llegado a la franja superior impuesta por nosotros procederemos a la extracción de

la fase estacionaria y la dejaremos secar. Cuando la placa este seca observaremos los diferentes compuestos. En el caso de que sean incoloros lo haremos mediante luz ultravioleta. Se marcara la zona exacta en la que ha quedado cada compuesto y se medirá la distancia recorrida.

El cociente de la distancia recorrida por los compuestos y la distancia recorrida por la fase móvil desde el punto de aplicación hasta el límite superior establecido por nosotros nos dará el valor Rf

$$R_f = \text{Distancia recorrida por el soluto} / \text{Distancia recorrida por la fase móvil}$$

Si el  $R_f < 0,5$  significa que esa sustancia ha recorrido (ha sido eluida) una distancia menor a la mitad de lo que ha recorrido el eluyente. Si es igual a 0,5 ha sido eluido justo en la mitad de la distancia y si es mayor a 0,5 pues habrá sido eluida más de la mitad de la distancia del eluyente.

Como la distancia recorrida por la mezcla eluyente fue de 8,8 cm y las distancias recorridas por las muestras fueron diferentes, los Rf quedan:

**Cuadro N° 8. Valores de Rf para las muestras de colorante de mora.**

Muestras	Distancia recorrida por la mezcla eluyente	Distancia recorridas por las muestras	Rf de las muestras
<b>Etanol</b>	8,8 cm	7,0 cm	0,7955
<b>Metanol</b>		1,5 cm	0,1705
<b>Agua</b>	6,1 cm	3,0 cm	0,4905

## 2.16. YOGUR

Es el producto coagulado obtenido por fermentación láctica de la leche o mezcla de esta con derivados lácteos. Mediante la acción de bacterias lácticas *Lactobacillus Delbrueckii subsp. Bulgaricus* y *Sreptococcus Salivaris subsp. Thermophilus*, pudiendo estar acompañadas de otras bacterias benéficas que por su actividad le confieren las características al producto terminado; estas bacterias deben ser viables

y activas desde su inicio y durante toda la vida activa de un producto. Puede ser adicionado o no de los ingredientes y aditivos indicados en esta norma. (INEN. 2011).

El yogur, (también conocido como yogurt, yogourt o yoghurt, aunque la Real Academia Española (RAE) solo admite la forma 'yogur') es un producto lácteo obtenido mediante la fermentación bacteriana de la leche.

Si bien se puede emplear cualquier tipo de leche, la producción actual usa predominantemente leche de vaca. La fermentación de la lactosa (el azúcar de la leche) en ácido láctico es lo que da al yogur su textura y sabor tan distintivo. A menudo, se le añade fruta, vainilla, chocolate y otros saborizantes, pero también puede elaborarse sin añadirlos; en algunos países se conoce al de sabor natural como Kumis (natural). (Ramos, A. 2003).

### **2.16.1. Composición**

El proceso de elaboración del yogur data de hace miles de años, sin embargo hasta el siglo XIX se conocían muy pocas fases del proceso productivo. El arte de producción era transmitido de generación en generación; sin embargo en las últimas décadas, este proceso se ha racionalizado, principalmente por los descubrimientos en diversas disciplinas, como la física e ingeniería química, la bioquímica y enzimología; y sobre todo la tecnología industrial.

La elaboración de yogur requiere la introducción de bacterias 'benignas' específicas en la leche bajo una temperatura y condiciones ambientales controladas muy cuidadosamente en el entorno industrial pasa por un proceso de fermentación en cámaras calientes a la temperatura de 43 °C para obtener el grado óptimo de acidez cual es el pH óptimo de 4; este proceso puede llegar a durar aproximadamente cuatro horas. Una vez obtenida la acidez óptima, debe enfriarse el yogur hasta los 5 °C para detener la fermentación. En los yogures batidos, los de textura cremosa, con o sin frutas, el proceso es diferente, en cuanto la fermentación se realiza en depósitos, previo al proceso de envasado, que se realiza en frío, por lo que no necesita de



fermentación posterior. Las bacterias utilizan como fuente de energía la lactosa o azúcar de la leche, y liberan ácido láctico como producto de desecho; este provoca, un incremento de la acidez que hace a su vez que las proteínas de la leche precipiten, formando un gel. La mayor acidez (pH 4-5) también evita la proliferación de otras bacterias potencialmente patógenas. El primer estudio bacteriológico acerca del yogur fue realizado por Grigoroff, quien detectó la presencia de tres distintos microorganismos, "*diplostreptococcus*".

Si el yogur no se calienta hasta matar a las bacterias después de la fermentación, se vende bajo la denominación de cultivo activo vivo (o simplemente vivo en algunos países), que algunos consideran nutricionalmente superior. En España, los productores de yogur se dividían entre los que querían reservar la denominación yogur para el yogur vivo y los que deseaban introducir el yogur pasteurizado bajo esa etiqueta. (Ramos, A. 2003).

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. MATERIALES

##### 3.1.1. Localización de la investigación

El presente trabajo de investigación se realizó en la Planta de Frutas y Hortalizas de la Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente, de la Escuela de Ingeniería Agroindustrial, de la Universidad Estatal de Bolívar.

**Tabla N° 1. Ubicación del experimento**

DESCRIPCIÓN	UBICACIÓN
<b>Provincia</b>	Bolívar
<b>Cantón</b>	Guaranda.
<b>Parroquia</b>	Guanujo.
<b>Dirección</b>	Av. Ernesto Che Guevara s/n y Av. Gabriel Secaira.
<b>Sector</b>	Alpachaca km 3 ½ vía Ambato

Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2012)

##### 3.1.2. Situación geográfica y climática de la localidad

**Tabla N° 2. Parámetros climatológicos.**

PARÁMETROS	VALOR
<b>Altitud</b>	2668 msnm
<b>Longitud</b>	79°00'02" O
<b>Latitud</b>	01°34'15" S
<b>Temperatura máxima</b>	18 °C
<b>Temperatura mínima</b>	8 °C
<b>Temperatura media anual</b>	13 °C
<b>Humedad</b>	75 %
<b>Precipitación media anual</b>	687 mm

Fuente: (Estación Meteorológica Laguacoto. 2011)

### **3.1.3. ZONA DE VIDA**

De acuerdo con la clasificación de la zona de vida de L. Holdrige, el sitio corresponde a la formación Bosque Húmedo Montano Bajo (Bhmb).

### **3.1.4. Material Experimental**

- Mora

### **3.1.5. Materiales de campo**

- Libreta de apuntes
- Cámara fotográfica digital
- Marcadores.
- Matrices de catación

### **3.1.6. Materiales de laboratorio**

- Rotavapor R-210
- Mechero Bunsen
- Pipetas de 0,1 ml. – 1 ml
- Probeta 500 ml
- Medidor de humedad
- Cajas Petri
- Cámara de flujo laminar
- Espectrofotómetro
- Balanza analítica
- Despulpadora
- pH metro
- Refractómetro
- Secador de bandejas
- Colador
- Mesa de trabajo

-.

### **3.1.7. Reactivos.**

- Etanol 96°
- Agua destilada
- Ácido cítrico
- Bicarbonato de sodio
- Benceno
- Metanol

### **3.1.8. Materiales oficina**

- Computadora
- Pen drive
- Impresora
- Papel de impresión A4
- Esferos
- Escritorio
- Calculadora
- Software estadístico (Statistix 9, Microsoft Excel 2010)

.

.

.

.

.

.

.

.

.

.

.

.

.

## 3.2. METODOS

### 3.2.1. Diseño experimental

En la investigación realizada se utilizó tres factores A (variedades de mora), B (métodos de extracción), y C (tiempos de deshidratado) aplicando un diseño de bloques completamente al azar (DBCA) trifactorial 2×2×2, con 3 repeticiones, para determinar el mejor tratamiento.

### 3.2.2. Factores en estudio

Para la siguiente tabla se muestra los factores de estudio que se utilizaron para realizar la siguiente investigación.

Tabla N° 3: Para el presente trabajo de investigación se aplicaron los siguientes factores.

FACTOR	CÓDIGO	NIVELES	DESCRIPCIÓN
<b>Variedades de mora</b>	<b>A</b>	<b>A<sub>1</sub></b> <b>A<sub>2</sub></b>	<b>A<sub>1</sub></b> = Mora de castilla con espinas <b>A<sub>2</sub></b> = Mora de castilla sin espinas
<b>Métodos de extracción</b>	<b>B</b>	<b>B<sub>1</sub></b> <b>B<sub>2</sub></b>	<b>B<sub>1</sub></b> =Deshidratado <b>B<sub>2</sub></b> =Maceración
<b>Tiempos de deshidratado</b>	<b>C</b>	<b>C<sub>1</sub></b> <b>C<sub>2</sub></b>	<b>C<sub>1</sub></b> = 10 h. 65°C <b>C<sub>2</sub></b> = 12 h. 65°C

Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2012)

.

.

.

.

**Tabla N° 4: Combinación de los tratamientos**

N° de Tratamiento	Codificación	Descripción	Tamaño U.E.
T <sub>1</sub>	A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	Mora de castilla + Concentración + Deshidratado (10 h. 65° C)	1000 g
T <sub>2</sub>	A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	Mora de castilla + Concentración + Deshidratado (12 h. 65° C)	1000 g
T <sub>3</sub>	A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub>	Mora de castilla + Maceración + Deshidratado (10 h. 65° C)	1000 g
T <sub>4</sub>	A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	Mora de castilla + Maceración + Deshidratado (12 h. 65° C)	1000 g
T <sub>5</sub>	A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	Mora de castilla sin espinas + Concentración + Deshidratado (10 h. 65° C)	1000 g
T <sub>6</sub>	A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	Mora de castilla sin espinas + Concentración + Deshidratado (12 h. 65° C)	1000 g
T <sub>7</sub>	A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub>	Mora de castilla sin espinas + Maceración + Deshidratado (10 h. 65° C)	1000 g
T <sub>8</sub>	A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	Mora de castilla sin espinas + Maceración + Deshidratado (12 h. 65° C)	1000 g

Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2012)

**Tabla N° 5: Análisis de varianza (ADEVA)**

Para el análisis de varianza sacamos los grados de libertad de cada uno de los tratamientos, factores de estudio e interacciones que se producen de los mismos a igual que el error experimental.

FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD (GI)
<b>TOTAL ( t × r )</b>	23
<b>Tratamientos ( t - 1 )</b>	7
<b>Factor A ( A - 1 )</b>	1
<b>Factor B ( B - 1 )</b>	1
<b>Factor C ( C - 1 )</b>	1
<b>Interacción (A×B)</b>	1
<b>Interacción (A×C)</b>	1
<b>Interacción (B×C)</b>	1
<b>Interacción (A×B×C)</b>	1
<b>ERROR EXPERIMENTAL</b>	9

Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2012)

**.Tabla N° 6. Características del experimento**

CARACTERÍSTICAS	RESULTADOS
Factor de Estudio ( Fe )	3
Tratamiento ( t )	8
Repeticiones ( r )	3
Unidades Experimentales	$( t \times r ) = 8 \times 3 = 24$
Tamaño de la unidad experimental	1000 g.

Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2012)

### **3.2.3. VARIABLES EVALUADAS**

En cada unidad experimental se utilizó 1000 g de mora castilla como materia prima de lo cual se realizó el respectivo cálculo de los factores a utilizar.

#### **a) Materia prima (MP)**

- Peso
- pH
- Grado brix

#### **b) Producto terminado (Colorante mejor tratamiento)**

- pH
- Peso
- Análisis organoléptico (color, olor, granulosis).
- Recuento total de microorganismos
- Determinación de humedad
- Cromatografía de papel
- Espectrofotometría al mejor tratamiento

#### **c) Aplicación del colorante en yogur**

- Aceptabilidad

#### **3.2.4. Análisis estadístico**

Se realizó los siguientes análisis:

- La prueba de Tukey al 5% para el análisis de comparación de los promedios de los factores A, B, C, e interacciones A×B, A×C, B×C y A×B×C.
- Análisis de correlación y regresión simple en el análisis organoléptico sensorial.
- Establecer la relación beneficio-costo B/C.

### **3.3. DESCRIPCIÓN DEL PROCESO PARA LA OBTENCIÓN DEL COLORANTE NATURAL MEDIANTE DESHIDRATADO.**

#### **3.3.1. RECEPCIÓN DE LA MATERIA PRIMA**

La recepción se lo realizó con frutos limpios, sin golpes y de consistencia firme con un estado de madurez óptimo entre 5-6 según norma NTE INEN 2427 (2011) según la matriz de escala de color, obtenidos del cantón Chillanes y Ambato.

#### **3.3.2. SELECCIÓN**

Se lo hizo por inspección visual para la sanidad y el color según norma NTE INEN 2427 (2010), donde se seleccionó a las frutas desarrolladas, firmes, eliminando la fruta que presento signos de descomposición, golpeadas, deterioradas o cualquier otro daño físico que afecte en el proceso.

#### **3.3.3. LAVADO**

Las moras se colocaron en recipientes metálicos, donde se reciben chorros de agua a temperatura ambiente. Este lavado se realizó con el fin de eliminar impurezas presentes en las frutas y disminuir la carga microbiana.

#### **3.3.4. PESADO**

Se pesó cada una de las variedades de mora que se utilizó para la investigación, en base a los porcentajes determinados, y de acuerdo a las fórmulas predeterminadas, para lo cual se utilizó una balanza digital calibrada para evitar errores en los cálculos posteriores.



### **3.3.5. DESPULPADO**

En esta etapa se extrajo la pulpa de mora en un despulpador limpio de tipo VPB – 30 modelo vasto 3P30A5000UAC. Obteniendo un producto semilíquido para facilitar el deshidratado.

### **3.3.6. TAMIZADO**

En esta operación se procedió a retirar algunas partículas extrañas o groseras ya que para el pulverizado debemos tener un producto deshidratado para un mejor manejo, esto se lo realizo mediante tamices adecuados haciendo dos repeticiones.

### **3.3.7. CONCENTRADO**

La pulpa obtenida se concentró mediante la aplicación a fuego directo a temperatura de 65°C, dónde solo se retiró el 20% de agua, a fin de mantener las características de aroma y sabor del producto.

### **3.3.8. DESHIDRATADO**

La pulpa obtenida se colocó en platos plásticos desechables a base de espuma sobre bandejas y éstas se ubicaron en el secador de bandejas a una temperatura de 65°C por un tiempo de 10 y 12 horas.

### **3.3.9. PULVERIZADO**

En esta etapa se recogió el producto seco bruto utilizando una espátula que facilita la separación con el plato, y utilizando un mortero para obtener el producto final en polvo (colorante).

### **3.3.10. TAMIZADO**

Se recogió todo el polvo en bandejas de metal y se pasó por una serie de mallas para determinar el tamaño de las partículas y si fuere necesario realizar un nuevo pulverizado y tamizado.

### **3.3.11. ENVASADO**

Se envasó en frascos de vidrio con capacidad de 60 g totalmente esterilizados, el envasado fue semi-rápido ya que es un producto higroscópico y sellado herméticamente para evitar la formación de grumos por el aumento de humedad que pueda ocurrir y originando una mala presentación en el producto. Luego se procedió a la codificación para cada uno de los tratamientos.

### **3.3.12. ALMACENADO**

Ya en esta etapa se procedió a su almacenamiento en un lugar que se encuentre a temperatura ambiente, con ventilación, seco y fuera del alcance de luz y humedad.

Para el manejo experimental, de la extracción de colorante con dos variedades de mora y dos tiempos seguiremos los siguientes pasos que se muestran en el siguiente diagrama.

.

.

.

.

.

.

.

.

.

.

.

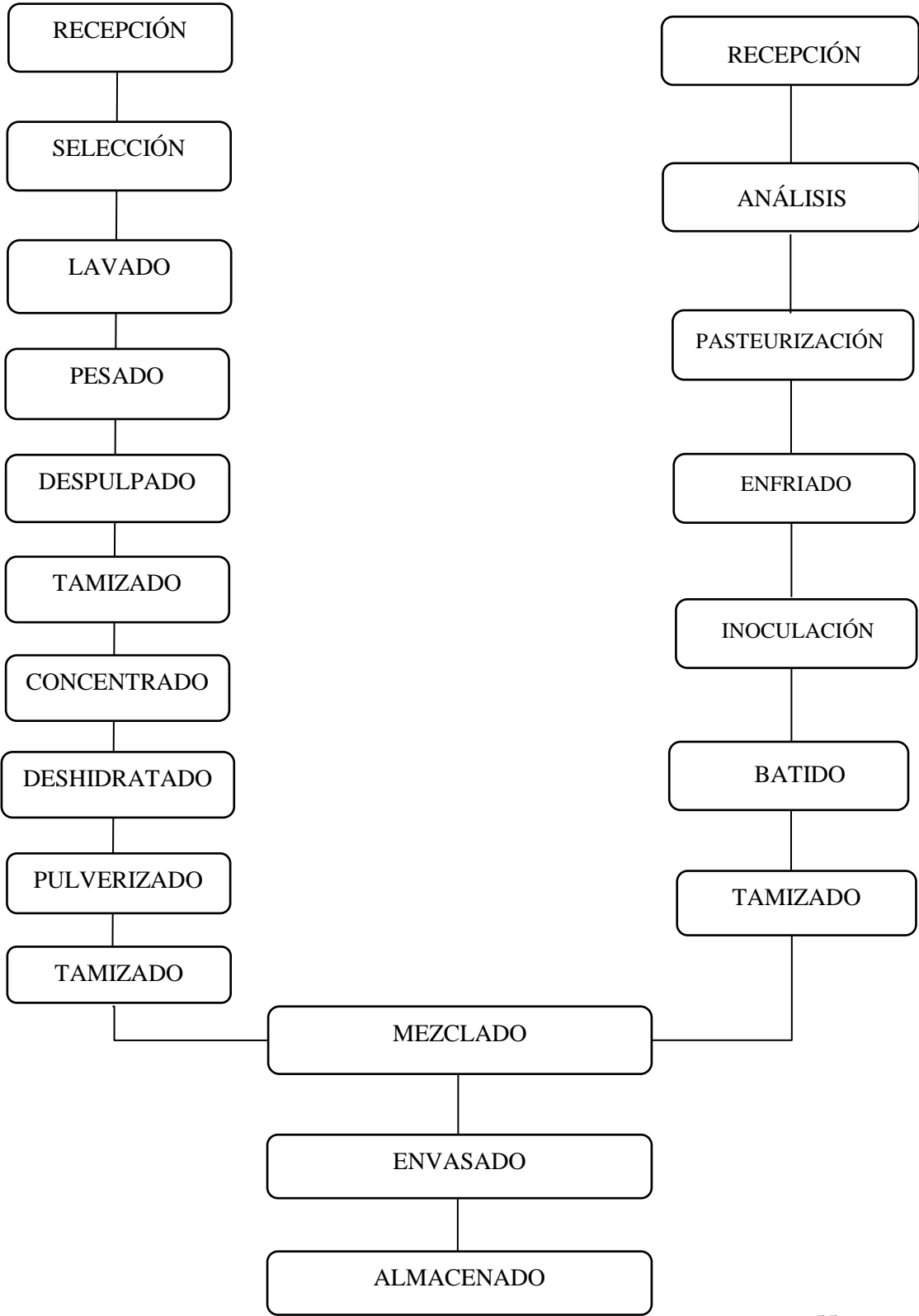
.

.

.

.

**3.4. Diagrama de flujo para la extracción del colorante natural de mora mediante el método de deshidratado y su aplicación en el yogur.**



### **3.5. DESCRIPCIÓN DEL PROCESO PARA LA OBTENCIÓN DE COLORANTE NATURAL MEDIANTE MACERACIÓN.**

#### **3.5.1. RECEPCIÓN DE LA MATERIA PRIMA**

La recepción se lo realizó con frutos limpios, sin golpes y de consistencia firme con un estado de madurez óptimo entre 5-6 según norma NTE INEN 2427 (2011) según la matriz de escala de color, obtenidos del cantón Chillanes y Ambato.

#### **3.5.2. SELECCIÓN**

Se lo hizo por inspección visual para la sanidad y el color según norma NTE INEN 2427 (2010), donde se seleccionó a las frutas desarrolladas, firmes, eliminando la fruta que presento signos de descomposición, golpeadas, deterioradas o cualquier otro daño físico que afecte en el proceso.

#### **3.5.3. LAVADO**

Las moras se colocaron en recipientes metálicos, donde se reciben chorros de agua. A través de este lavado se eliminan agentes extraños, partículas groseras al igual que microorganismos presentes en la fruta.

#### **3.5.4. PESADO**

Se pesó cada una de las variedades de mora que se utilizó para la investigación, en base a los porcentajes determinados, y de acuerdo a las formulas predeterminadas, para lo cual se utilizó una balanza calibrada para evitar errores en los cálculos posteriores.

#### **3.5.5. CORTADO**

Para esta operación se utilizó cuchillos de acero inoxidable sobre una tabla plástica para picar, el corte fue de 0.5 cm para favorecer la extracción que se lo realizará mediante una maceración

El corte de la fruta permite que el alcohol utilizado abarque una mayor superficie y se facilite o se acelere la maceración.

### **3.5.6. MACERACIÓN**

La mora troceada, se colocó en matraces Erlenmeyer de capacidad de 1000 ml debidamente sellados para evitar la evaporación del alcohol acidificado al 1% en la cual ayuda al tejido vegetal de la mora a la dispersión de las sustancias requeridas para el proceso, la muestra se coloca añadiendo 500 ml de etanol 96° acidificado al 1% durante 72h.

### **3.5.7. FILTRADO**

Luego de haber pasado por el lapso de tiempo requerido en la maceración se procede a filtrar la muestra en lienzos que permitió separar la fruta troceada de la parte líquida que está constituida por el colorante y el etanol.

### **3.5.8. SEPARACIÓN**

Se realizó la separación del alcohol y el colorante, utilizando un rotavapor a una temperatura de 50 °C ya que en este equipo se trabaja a temperaturas inferiores de ebullición del alcohol y a una presión baja con una bomba al vacío ya que el colorante tiende a degradarse a temperaturas altas.

### **3.5.9. DESHIDRATADO**

La concentración obtenida mediante la separación se colocó en platos plásticos desechables a base de espuma sobre bandejas, llevándolo al secador de bandejas a una temperatura de 65°C por un tiempo de 10 y 12 horas.

### **3.5.10. PULVERIZADO**

En esta etapa se recogió el producto seco bruto utilizando una espátula que facilita la separación con el plato, utilizando un mortero para obtener el producto final en polvo (colorante).

### **3.5.11. TAMIZADO**

Se recogió todo el polvo en bandejas de metal y se pasó por una serie de mallas para determinar el tamaño de las partículas y determinar si se realizará un segundo pulverizado y tamizado si así fuere necesario.

### **3.5.12. ENVASADO**

Se envasó en frascos de vidrio con capacidad de 60 g totalmente esterilizados, el envasado fue semi-rápido ya que es un producto higroscópico y sellado herméticamente para evitar la formación de grumos por el aumento de humedad que pueda ocurrir y originando una mala presentación en el producto. Luego se procedió a la codificación para cada uno de los tratamientos.

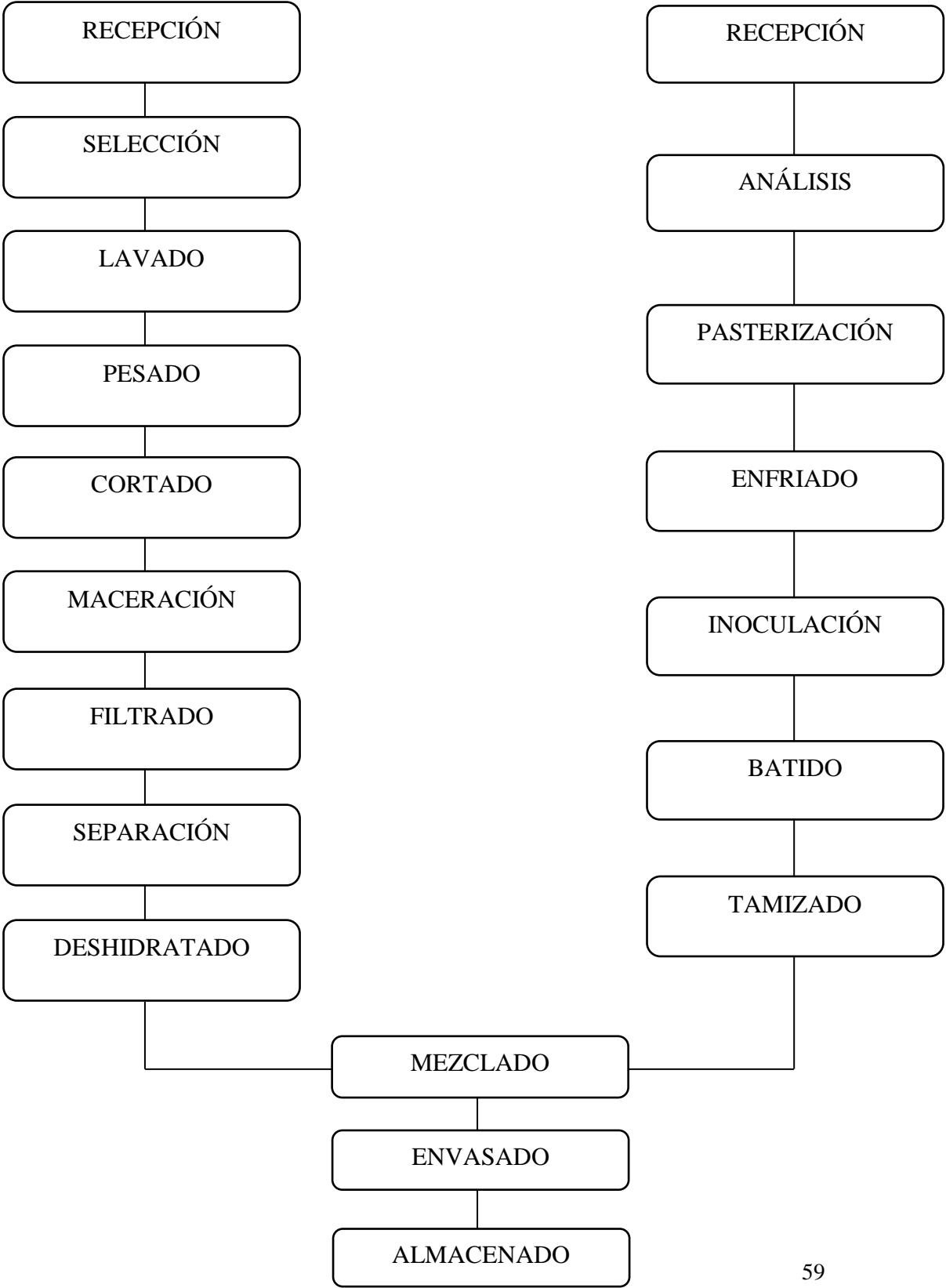
### **3.5.13. ALMACENADO**

Ya en esta etapa se procedió a su almacenamiento en un lugar que se encuentre a temperatura ambiente, con ventilación, seco y fuera del alcance de luz y humedad.

Para el manejo experimental, de la extracción de colorante con dos variedades de mora y dos tiempos seguiremos los siguientes pasos que se muestran en el siguiente diagrama.

- 
- 
- 
- 
- 
- 
- 
-

**3.6. Diagrama de flujo para la extracción del colorante natural de mora mediante el método de maceración y su aplicación en el yogur.**



## 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 4.1. MATERIA PRIMA.

En la materia prima se realizó el análisis físico-químico para cada una de las variedades utilizadas como fue: Peso, pH y °Brix.

**Tabla N° 7. Análisis de variables en la materia prima.**

<b>Materia Prima</b>	<b>Peso Fruta (g)</b>	<b>Peso Pulpa (g)</b>	<b>pH</b>	<b>°Brix</b>
<b>Mora de castilla con espinas</b>	1000	820	3,35	8.5
<b>Mora de castilla sin espinas</b>	1000	826	3,50	11.5

Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2013)

#### **a) Peso**

Para cada una de las variedades de mora se trabajó con un peso inicial de 1 Kg de mora de acuerdo con la unidad experimental, luego de realizar la selección y la obtención de la pulpa se trabajó con un peso de 820 g para la mora de castilla con espinas y un peso de 826 g para la mora de castilla sin espinas, el rendimiento fue del 82% y 82.6% respectivamente, estas diferencias de pesos es debido al contenido de sólidos solubles e insolubles y su tamaño que es mucho más grande para la mora de castillas sin espinas ya que es una especie mejorada.

#### **b) Potencial hidrogeno (pH)**

El pH de la mora de castilla con espinas presentó valores más bajos en relación con la mora de castilla sin espinas, el valor de pH en la pulpa de mora de castilla con espinas es 3.35, y en la mora de castilla sin espinas se tiene un valor pH de 3.50.

El estado de madurez fisiológica de las variedades de mora fue escogida según la norma NTE INEN 2427 (2010), según la escala de color entre 5 – 6 que son las más aptas para obtener el colorante deseado. Este valor de pH nos ayuda a obtener un color rojo intenso en el producto final.



La diferencia de pH es debido al contenido de sólidos solubles que existen en mayor cantidad en la mora de castilla sin espinas, por el estado de madurez fisiológica de cada variedad, otros factores que pueden afectar los valores de pH pueden ser las condiciones climatológicas que se presenten en el momento de realizar los análisis y las condiciones de crecimiento de cada variedad.

### **c) Grados Brix (°Brix)**

Se determinó la concentración de azúcares de la materia prima empleada en la investigación, diferenciándose a la mora de castilla con espinas con menor concentración de 9 °Brix mientras que para la mora de castilla sin espinas se obtuvo un promedio de 11 °Brix, este rango de sólidos solubles nos indica que las moras se encuentran en un estado de madurez fisiológica apropiada ya que conforme avanza el proceso de maduración el almidón presente en las frutas se convierte en azúcares los que incrementan el porcentaje de °Brix en la fruta. El porcentaje de glucosa en la fruta es importante ya que viene unido a la antocianidina para formar la antocianina.

## **4.2. PRODUCTO TERMINADO**

La antocianina extraída de la mora de castillas se considera el producto final de la investigación el cual se aplicó en una bebida fermentada (yogur), midiendo las variables de respuesta descritas a continuación.

#### 4.2.1. CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS.

- Color.

**Tabla N° 8. Análisis de Varianza para la variable color del colorante obtenido a partir de mora.**

Fuentes de Variación	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Probabilidad
Catadores	12,3875	1	12,3875	32,91	0,000001 **
Variedades (Factor A)	0,09	1	0,09	0,23	0,6294 NS
Métodos (Factor B)	0,36	1	0,36	0,95	0,3320 NS
Tiempos (Factor C)	1,81	1	1,81	4,80	0,0318 *
Interacción ( Variedades vs Métodos) A×B	0,09	1	0,09	0,24	0,6242NS
Interacción (Variedades vs Tiempos) A×C	0,02	1	0,02	0,06	0,8050NS
Interacción (Métodos vs Tiempos) B×C	0,20	1	0,20	0,54	0,4662NS
Interacción (Variedades vs métodos vs tiempos) A×B×C	1,81	1	1,81	4,81	0,0315*
Error residual	26,7262	71	0,376426		
Total	43,4956	79			
Media global	3,43				
CV%	17,87				

Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2013)

\*\*= diferencia estadística altamente significativa

NS= Diferencia estadística no significativa.

El análisis de varianza para el color en el colorante de mora, en la valoración dada por los catadores existe una diferencia altamente significativa ya que cada uno de los evaluadores tienen criterios diferentes. Para el factor A y B se observa que no existe diferencia estadística porque las variedades de mora y los métodos de extracción no influenciaron en el proceso de obtención del colorante para la variable color, mientras que el factor C (tiempo) y la interacción A×B×C, existe diferencia significativa donde el tiempo si influyó en el proceso, por la exposición al calor del colorante durante un tiempo prolongado considerándose de esta manera al tiempo C<sub>1</sub> (10 horas) como aceptable para el color.

En el análisis de varianza para el atributo color tuvo un coeficiente de variación de 17,87% donde nos indica que existe mayor homogeneidad en los valores de las variables utilizadas

**Tabla N° 9. Prueba de Tukey al 5% para la variable color en el factor C (tiempos)**

Fuente de Variación	Medias	Nivel de significancia
<b>C<sub>1</sub> (10 horas)</b>	3,58	A
<b>C<sub>2</sub> (12 horas)</b>	3,28	B
<b>GI</b>	71	
<b>Tukey alfa</b>	0,05	
<b>DMS</b>	0,27355	
<b>Error</b>	0,3764	

Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2013).  
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

Se aprecia que existe diferencia estadística significativa en los tiempos, considerándose de esta manera al tiempo C<sub>1</sub> (10 horas) como aceptable para el color.

**Tabla N° 10. Prueba de Tukey al 5% para la variable color.**

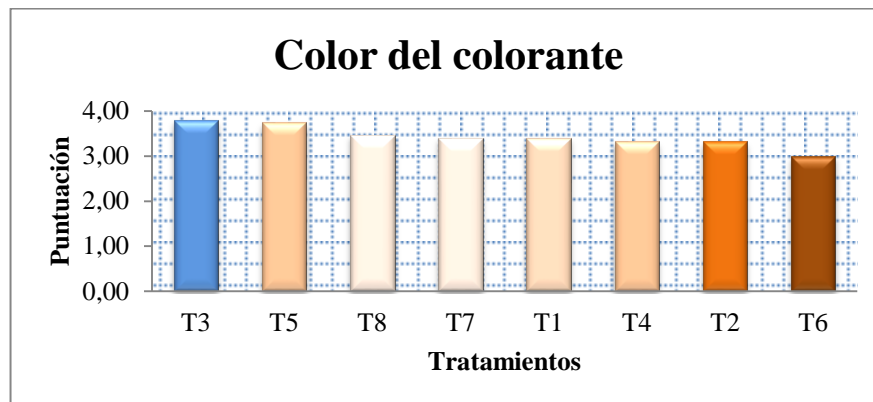
Tratamientos	Código	Medias	Nivel de significancia
<b>T<sub>3</sub></b>	A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub>	3,80	A
<b>T<sub>5</sub></b>	A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	3,74	A
<b>T<sub>8</sub></b>	A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	3,47	A
<b>T<sub>7</sub></b>	A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub>	3,40	AB
<b>T<sub>1</sub></b>	A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	3,40	AB
<b>T<sub>4</sub></b>	A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	3,33	B
<b>T<sub>2</sub></b>	A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	3,33	B
<b>T<sub>6</sub></b>	A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	3,00	B

Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2013).

Mediante la prueba de Tukey al 5% para la variable color en la tabla N° 10, se puede apreciar que matemáticamente es diferente para cada uno de los tratamientos, al igual que estadísticamente de acuerdo con el nivel de significancia los grupos no son

homogéneos ya que existe diferencia entre las variedades, métodos de extracción y tiempos de deshidratado por consiguiente el color en el producto final se notó la influencia de cada uno de ellos. El color rojo intenso del colorante en los tratamientos está dado por el valor de pH bajo que tiene la mora. Matemáticamente el tratamiento T<sub>3</sub>, (A<sub>1</sub>B<sub>2</sub>C<sub>1</sub>) (Mora de castilla con espinas + Maceración + Deshidratado 10 h. 65 °C) tiene un valor de 3.80 con el de mayor puntuación, correspondiendo en la escala de valoración de un color rojo a rojo brillante, seguido por el tratamiento T<sub>5</sub>, (A<sub>2</sub>B<sub>1</sub>C<sub>1</sub>) (Mora de castilla sin espinas + Concentración + Deshidratado 10 h. 65 °C), con un valor de 3.74 que corresponde a ligeramente oscura.

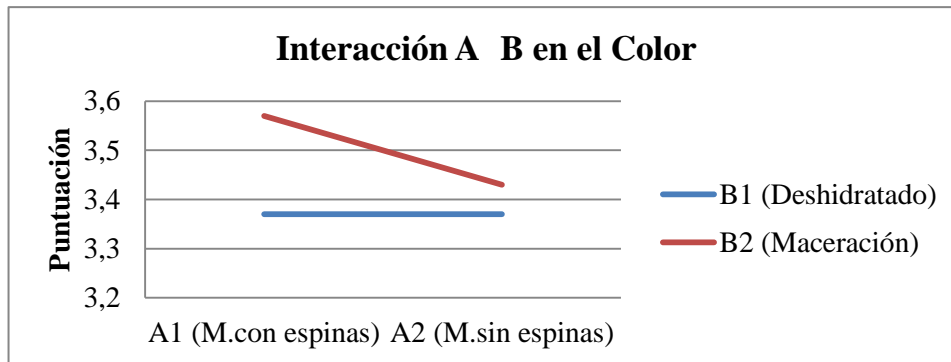
**Gráfico N° 4. Color, Producto terminado.**



Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2013).

En el gráfico N° 3, de acuerdo con los promedios de calificaciones del colorante de mora se observa al tratamiento T<sub>3</sub>, (A<sub>1</sub>B<sub>2</sub>C<sub>1</sub>) (Mora de castilla con espinas + Maceración + Deshidratado 10 h. 65 °C), tiene la mayor puntuación donde prevalece en relación a los demás tratamientos con un valor de 3,80 puntos, en la que influyo actuando en forma directa para el color en el colorante ya que a mayor tiempo de secado existe un pardeamiento alterando sus características físicas oscureciendo la antocianina, comparado con el tratamiento T<sub>6</sub>, (A<sub>2</sub>B<sub>1</sub>C<sub>2</sub>) (Mora de castilla sin espinas + Concentración + Deshidratado 12 h. 65 °C), donde su puntuación fue de 3,00 siendo el más bajo ya que se utilizó un tiempo de 12 horas para el deshidratado produciéndose un pardeamiento del colorante.

**Gráfico N° 5. Interacción A×B en el variable color**

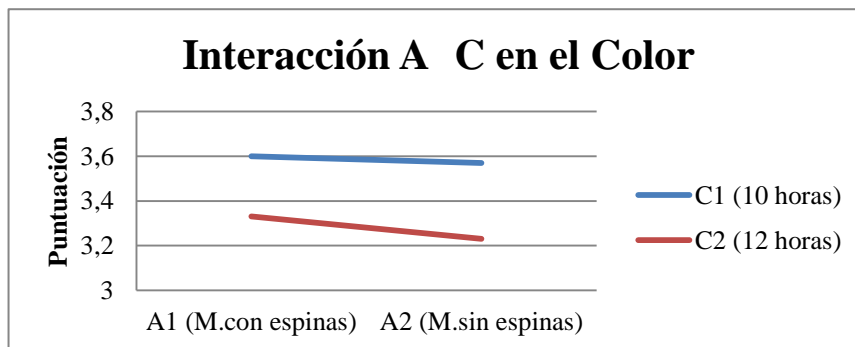


Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2013).

De la Interacción A×B en el color, las líneas de tendencia no presentan interacción porque el factor A correspondiente a las variedades de mora y el factor B métodos de extracción no influyen en la obtención del producto final.

La aplicación del método de maceración para la obtención de colorante es inversamente proporcional a las variedades de mora propuestas en la investigación ya que su aplicación va a decrecer con respecto a la opinión de los catadores, mientras que la aplicación de un deshidratado se mantiene constante sin diferenciar la variedad de mora que se utilice.

**Gráfico N° 6. Interacción A×C en el variable color.**

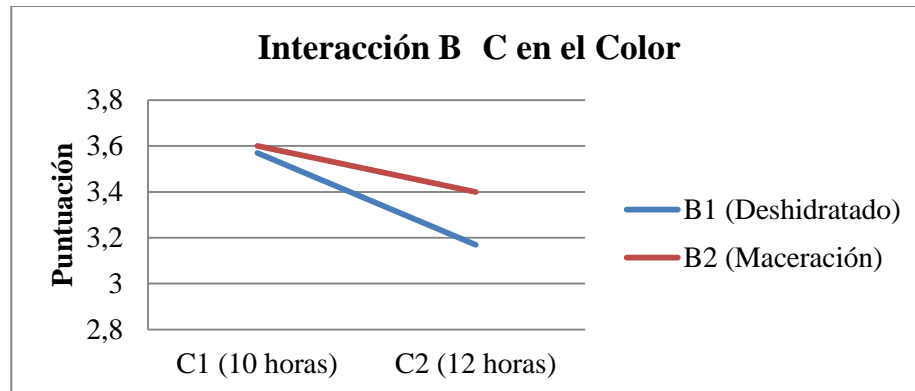


Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2013).

Se observa la interacción A×C en el color, que las líneas no presentan interacción a pesar de que el factor C (tiempo), existe diferencia estadística significativa que incide en el atributo color, ya que a mayor tiempo de deshidratado el color va variando de

rojo brillante a rojo oscuro debido al pardeamiento no enzimático que se produce al aumentar su tiempo de deshidratado manteniendo una temperatura constante de 65°C. La utilización de 10 horas en el proceso tiende a ser el mejor tiempo para el deshidratado.

**Gráfico N° 7. Interacción B×C en el color**



Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2013).

Se presenta la interacción B×C en el color, las líneas de tendencia presenta una interacción al ser inversamente proporcional el tiempo de deshidratado con los métodos de extracción utilizados para esta investigación para lo cual el factor C con un tiempo de 10 horas es el óptimo para la extracción del colorante natural.

Podemos evidenciar una intersección al inicio de las líneas entre los métodos de extracción y tiempos de deshidratado utilizadas donde la maceración es el mejor método de extracción al existir una menor disminución en comparación al deshidratado directo aplicado en el colorante aplicando diferentes tiempos.

- Olor

**Tabla N° 11. Análisis de Varianza para el atributo olor del colorante de mora.**

Fuentes de Variación	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Probabilidad
Catadores	0,672005	1	0,672005	1,14	0,2890 NS
Variedades (Factor A)	0,24	1	0,24	0,40	0,5292NS
Métodos (Factor B)	0,50	1	0,50	0,85	0,3588 NS
Tiempos (Factor C)	0,40	1	0,40	0,68	0,4123 NS
Interacción ( Variedades vs Métodos) A×B	0,17	1	0,17	0,28	0,5955 NS
Interacción (Variedades vs Tiempos) A×C	0,24	1	0,24	0,40	0,5292 NS
Interacción (Métodos vs Tiempos) B×C	1,4E-03	1	1,4E-03	2,5E-03	0,9606 NS
Interacción (Variedades vs métodos vs tiempos) A×B×C	1,17	1	1,17	1,98	0,1637 NS
Error residual	41,8098	71	0,588871		
Total	45,191	79			
Media global	3,72				
Cv %	20,62				

Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2013).

NS = Diferencia estadística no significativa.

En el Análisis de Varianza para el olor, se observa que no existe diferencia estadística significativa, tanto para los factores, interacciones y de igual manera en los catadores, por cuanto los factores A (Variedades de mora), factor B (Métodos de extracción) y factor C (Tiempos de deshidratado), con la combinación A×B, A×C, B×C y A×B×C, no influyen en el atributo olor, ya que el olor no varía para las dos variedades de mora, manteniendo el aroma natural del producto en todos los tratamientos.

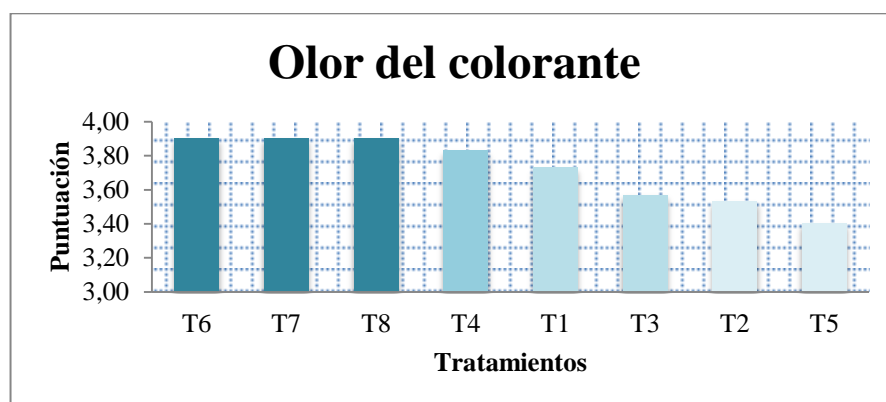
**Tabla N° 12. Prueba de Tukey al 5% para la variable olor en cada tratamiento**

Tratamientos	Código	Medias	Nivel de significancia
T <sub>6</sub>	A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	3,90	A
T <sub>7</sub>	A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub>	3,90	A
T <sub>8</sub>	A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	3,90	A
T <sub>4</sub>	A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	3,83	A
T <sub>1</sub>	A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	3,73	A
T <sub>3</sub>	A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub>	3,57	A
T <sub>2</sub>	A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	3,53	A
T <sub>5</sub>	A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	3,40	A

Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2013).

Para la variable olor aplicando la prueba de Tukey al 5% se evidencia que no existe diferencia estadística significativa en los tratamientos, pero se ha considerado al de mayor valor numérico referente al olor, llegando a ser de esta manera los tratamientos T<sub>6</sub>, (A<sub>2</sub>B<sub>1</sub>C<sub>2</sub>) (Mora de castilla sin espinas + Concentración + Deshidratado 12 h. 65 °C), T<sub>7</sub>, (A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>1</sub>) (Mora de castilla sin espinas + Maceración + Deshidratado 10 h. 65 °C) y T<sub>8</sub>, (A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>) (Mora de castilla sin espinas + Maceración + Deshidratado 12 h. 65 °C), con los de mayor puntuación de 3.90 correspondiente según la tabla de atributos a agradable, para el nivel de significancia estadísticamente todo el grupo es homogéneo como se dijo anteriormente ya que el olor o aroma de la mora no se alteró durante el proceso, por lo que se demuestra que los tiempos y temperatura usados no volatilizaron el aroma propio de la mora.

**Gráfico N° 8. Olor, Producto terminado.**

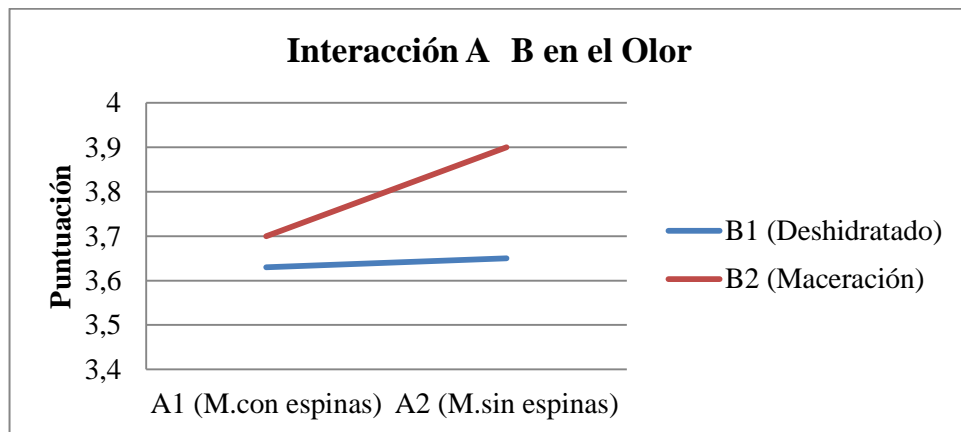


Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2013).



En el gráfico N° 8, se puede observar que el T<sub>6</sub>, (A<sub>2</sub>B<sub>1</sub>C<sub>2</sub>) (Mora de castilla sin espinas + Concentración + Deshidratado 12 h. 65 °C), T<sub>7</sub>, (A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>1</sub>) (Mora de castilla sin espinas + Maceración + Deshidratado 10 h. 65 °C) y T<sub>8</sub>, (A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>) (Mora de castilla sin espinas + Maceración + Deshidratado 12 h. 65 °C), presentan la mayor calificación de 3,90 puntos, en el atributo olor cada uno de los tratamientos mantienen el mismo olor ya que no se altera durante el proceso de extracción, según dado el valor anteriormente de 3,90 corresponde a agradable con un olor característico de la mora. Mientras que el tratamiento T<sub>5</sub>, (A<sub>2</sub>B<sub>1</sub>C<sub>1</sub>) (Mora de castilla sin espinas + Concentración + Deshidratado 10 h. 65 °C) obtuvo el menor puntaje correspondiente a una valoración de 3.40.

**Gráfico N° 9. Interacción A×B de la variable olor.**

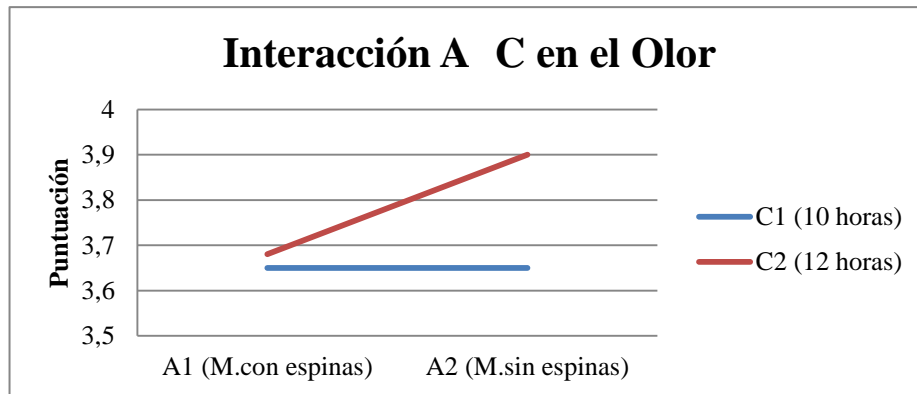


Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2013).

Se observa la interacción del Factor A (Variedades de mora) con el factor B (Métodos de extracción), donde no existe ningún cruce entre el factor A y el factor B indicando la no influencia de las Variedades de mora y los Métodos de extracción en el atributo olor en el colorante.

Las líneas correspondientes a la maceración y deshidratado mantiene una tendencia semi paralela sin interactuar entre ellas y asciende conforme se incrementa el tiempo de maceración y deshidratado para cada variedad de mora empleada en la siguiente investigación.

**Gráfico N° 10. Interacción A×C de la variable olor.**

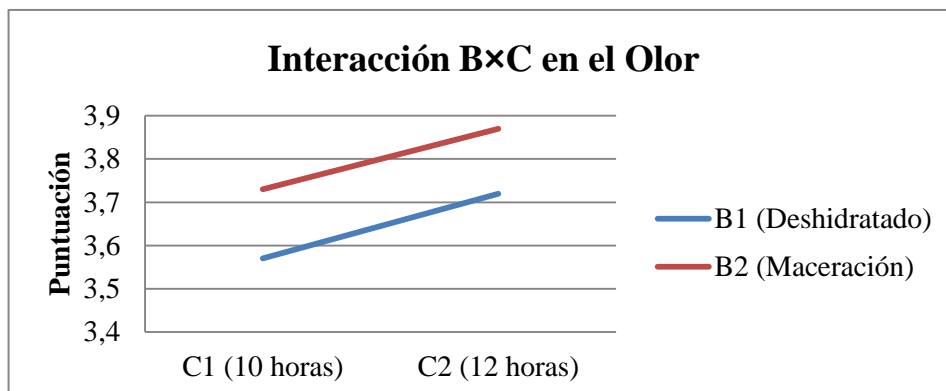


Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2013).

La interacción del factor A (Variedades de mora) con el factor C (Tiempos de deshidratado), no existe ningún cruce entre el factor A y el factor C indicando la no influencia de las variedades de mora y los tiempos de deshidratado en el atributo olor manteniendo las características naturales del producto.

En el gráfico N° 10, se observa que a un tiempo de 10 horas aplicadas para extraer el colorante se mantiene en línea recta, mientras que a 12 horas asciende el cual causa el aumento de la concentración en las sustancias volátiles del aroma y olor de la mora.

**Gráfico N° 11. Interacción B×C del atributo olor.**



Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2013).

Se presenta la interacción del factor B (Métodos de extracción) con el factor C (Tiempos de deshidratado), donde no existe ninguna intersección entre el factor B y

el factor C, al no existir una diferencia estadística no significativa indicando la no influencia de los métodos de extracción y los tiempos de deshidratado en el atributo olor del colorante de mora.

Existiendo un ascenso de las líneas de tendencia mientras mayor sea el tiempo que se aplique en la maceración y en el deshidratado, permitirá el cambio de color y concentrando las sustancias volátiles que se encuentran en la mora, favoreciendo al aroma y olor característico.

### Textura

**Tabla N° 13. Análisis de Varianza para textura del colorante de mora.**

Fuentes de Variación	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Catadores	7,03287	1	7,03287	15,59	0,0002 **
Variedades (Factor A)	0,03	1	0,03	0,07	0,7856 NS
Métodos (Factor B)	0,07	1	0,07	0,15	0,7029 NS
Tiempos (Factor C)	1,4E-03	1	1,4E-03	3,2E-03	0,9550 NS
Interacción ( Variedades vs Métodos) A×B	0,87	1	0,87	1,93	0,1693 NS
Interacción (Variedades vs Tiempos) A×C	0,31	1	0,31	0,69	0,4098 NS
Interacción (Métodos vs Tiempos) B×C	0,01	1	0,01	0,03	0,8682 NS
Interacción (Variedades vs métodos vs tiempos) A×B×C	0,61	1	0,61	1,36	0,2478 NS
Error experimental	32,0192	71	0,450975		
Total	40,9577	79			
Media global	3,72				
Cv %	18,05				

Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2013).

\*\*= Diferencia estadística altamente significativa.

NS= Diferencia estadística no significativa.

En el Análisis de Varianza para la textura (granulosidad) del colorante de mora, se aprecia que en los tratamientos y las interacciones existe diferencia estadística no

significativa, mientras que para los catadores se observa una diferencia altamente significativa, deduciéndose que para cada catador la textura o granulosidad de los tratamientos es diferente, esto debido a la utilización de un mortero para el pulverizado del colorante donde no fue el mismo porque no se ejerció la misma fuerza para cada uno de los tratamientos, al momento de aplicar en el yogur este debido al tamaño de las partículas permitió disolverse y formar una mezcla homogénea.

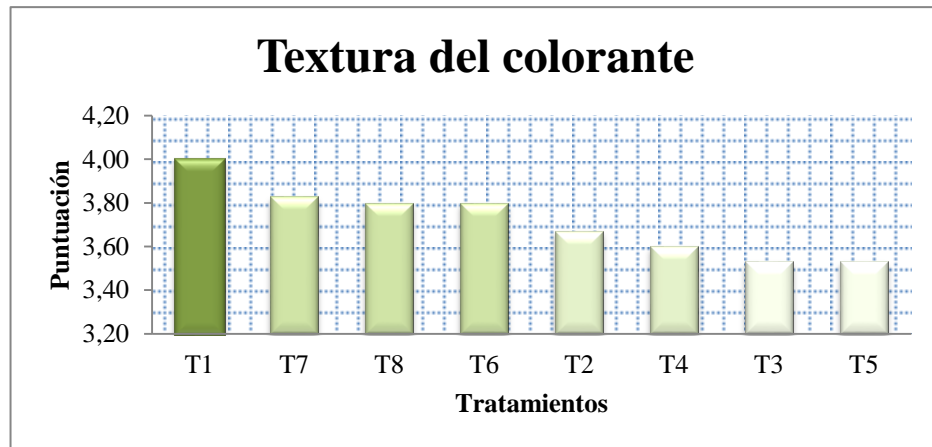
**Tabla N° 14. Prueba de Tukey al 5% para la variable textura del colorante.**

Tratamientos	Códigos	Medias	Nivel de significancia
T <sub>1</sub>	A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	4,00	A
T <sub>7</sub>	A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub>	3,83	A
T <sub>8</sub>	A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	3,80	A
T <sub>6</sub>	A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	3,80	A
T <sub>2</sub>	A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	3,67	A
T <sub>4</sub>	A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	3,60	A
T <sub>3</sub>	A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub>	3,53	A
T <sub>5</sub>	A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	3,53	A

Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2013).

En la tabla N° 14, de la prueba de Tukey al 5% en la textura del colorante natural de mora se aprecia estadísticamente un solo grupo homogéneo ya que la textura o granulosidad del colorante son semejantes en cada uno de los tratamientos, pero numéricamente el tratamiento T<sub>1</sub>, (A<sub>1</sub>B<sub>1</sub>C<sub>1</sub>) (Mora de castilla + Concentración + Deshidratado 10 h. 65 °C), es el de mayor puntaje con respecto a los demás tratamientos con un valor de 4,00 que corresponde a una granulosidad fina, seguido por el tratamiento T<sub>7</sub>, (A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>1</sub>) (Mora de castilla sin espinas+ Maceración + Deshidratado 10 h. 65 °C) con un valor de 3,83, las diferencias en la aceptación del colorante por parte de los catadores en el atributo textura o granulosidad es mínima ya que cada tratamiento debido a la aplicación de diferente fuerza en el pulverizado en cada uno de los tratamientos y en el tamizado donde pudieron haber pasado partículas que perjudican la opinión de los catadores con respecto a la textura del colorante natural en polvo obtenido.

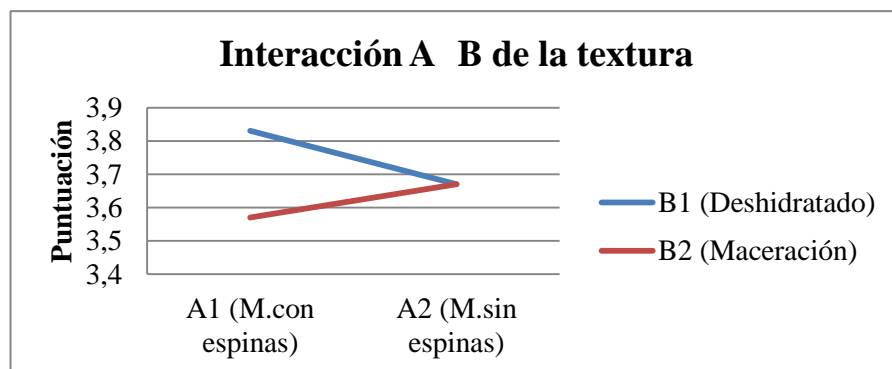
**Gráfico N° 12. Textura, Producto terminado**



Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2013).

En el gráfico N° 12, se muestra los puntajes de cada tratamiento, correspondiendo a la barra de mayor puntaje al tratamiento T<sub>1</sub>, (A<sub>1</sub>B<sub>1</sub>C<sub>1</sub>) (Mora de castilla con espinas + Concentración + Deshidratado 10 h. 65 °C) con una calificación de 4,00 puntos que corresponde a una granulosidad fina en relación a los demás niveles utilizados en la presente investigación comparado con el tratamiento T<sub>5</sub>, (A<sub>2</sub>B<sub>1</sub>C<sub>1</sub>) (Mora de castilla sin espinas + Concentración + Deshidratado 10 h. 65 °C) con un valor de 3,53 siendo el de menor puntaje correspondiente a una granulosidad gruesa. Aquí la solubilidad del colorante depende de la fineza en la que se encuentre el colorante ya que a mayor fineza se disuelve mucho más rápido en el líquido (yogur).

**Gráfico N° 13. Interacción A×B en la textura**

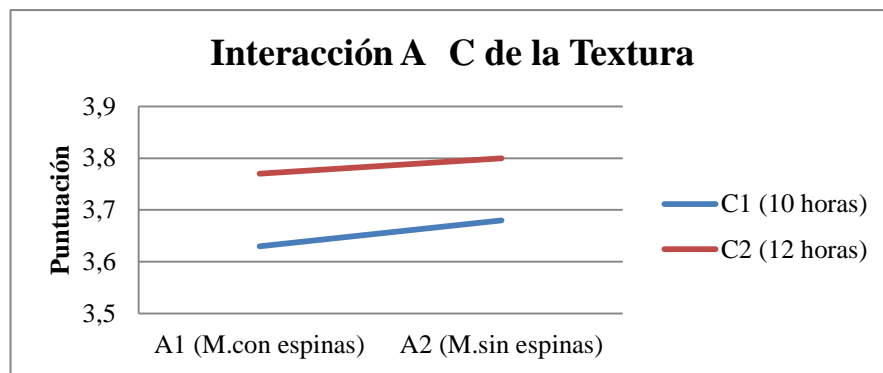


Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2013).

En el gráfico N° 13, se presenta la interacción al final de las líneas de tendencia existentes entre el Factor A (variedades de mora) con el Factor B (métodos de extracción), observándose claramente la diferencia altamente significativa por el cruce de líneas, incidiendo las variedades de mora y métodos de extracción en el atributo textura del colorante de mora.

La aplicación de un deshidratado directo es inversamente proporcional a la aplicación de una maceración para la obtención del colorante natural de mora, a diferencia de la maceración ya que su empleo en el proceso asciende su valoración al cambiar de la variedad de mora de castilla con espinas a la variedad de mora de castilla sin espinas.

**Gráfico N° 14. Interacción A×C en la textura**

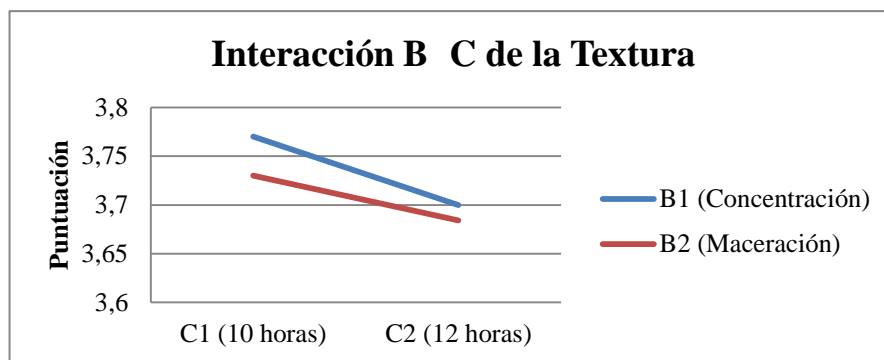


Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2013).

En el gráfico N° 14, se presenta la interacción que existe entre el Factor A (Variedades de mora) con el Factor C (Tiempos de deshidratado), observando que no existe ningún cruce entre los factores del atributo textura (granulosidad) del colorante de mora.

Entre las líneas de tendencia se observa que existe un paralelismo entre el tiempo de deshidratado y las variedades de mora empleadas, mientras se aplica un mayor tiempo se incrementa la aceptabilidad con respecto a la textura ya que nos ayuda al proceso de pulverizado y tamizado, si se incrementa la exposición al calor por un tiempo prolongado vamos a tener un producto desfavorable para nuestra investigación.

**Gráfico N° 15. Interacción B×C en la textura**



Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2013).

En el gráfico N° 15, se presenta la interacción que existe entre el Factor B (Métodos de extracción) con el Factor C (Tiempos de deshidratado), observando que no existe ninguna intersección entre los factores del atributo textura (granulosidad) del colorante de mora al igual que en el gráfico anterior.

En la interacción B×C se observa una correlación entre estos dos factores donde se reduce la aceptabilidad del colorante conforme aumenta las horas de deshidratado empleados, disminuyendo mayoritariamente al aplicar una maceración y deshidratado por 12 horas.

- **Aceptabilidad del colorante en el yogur**

**Tabla N° 16. Análisis de Varianza para aceptabilidad del yogur.**

Fuentes de Variación	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Probabilidad
Catadores	0, 278391	1	0,278391	0,63	0,4286 NS
Variedades (Factor A)	1,3E-06	1	1,3E-06	2,8E-06	0,9987 NS
Métodos (Factor B)	1,60	1	1,60	3,64	0,0604 NS
Tiempos (Factor C)	0,02	1	0,02	0,05	0,8231 NS
Interacción ( Variedades vs Métodos) A×B	0,20	1	0,20	0,45	0,5031 NS
Interacción (Variedades vs Tiempos) A×C	0,05	1	0,05	0,12	0,7330 NS
Interacción (Métodos vs Tiempos) B×C	0,09	1	0,09	0,20	0,6562 NS
Interacción (Variedades vs métodos vs tiempos) A×B×C	0,01	1	0,01	0,01	0,9077 NS
Error Experimental	31,1877	71	0,439264		
Total	33,4314	79			
Media Global	3,96				
Cv %	16,74				

Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2013).

NS= Diferencia estadística no significativa.

Para el Análisis de Varianza de la Aceptabilidad del colorante en el yogur, se observa que no existe diferencia estadística significativa, tanto para los factores, interacciones y de igual manera en los catadores, por cuanto los factores A (Variedades de mora), factor B (Métodos de extracción) y factor C (Tiempos de deshidratado) con la combinación A×B, A×C, B×C y A×B×C no influyen en el atributo aceptabilidad por lo que no altera las características organolépticas, favoreciendo o realzando sus atributos como color y olor, comparado con el yogur comercial son similares al



yogur de tipo I aceptando de esta forma la aplicación de un aditivo natural en el yogur.

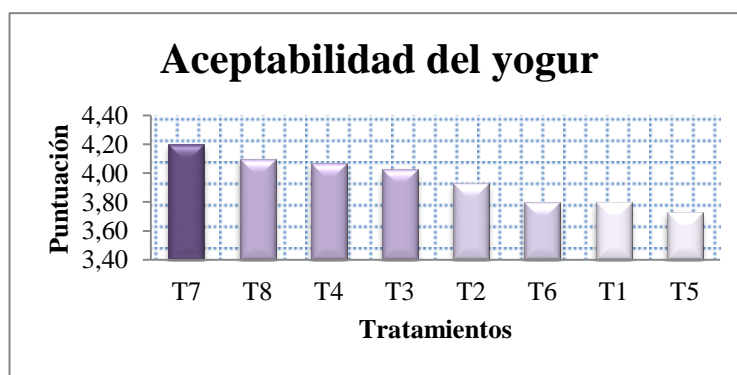
**Tabla N° 16. Prueba de Tukey al 5 % para la variable aceptabilidad del yogur en el colorante.**

Tratamientos	Códigos	Medias	Nivel de significancia
T <sub>7</sub>	A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub>	4,20	A
T <sub>8</sub>	A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	4,10	A
T <sub>4</sub>	A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	4,04	A
T <sub>3</sub>	A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub>	4,03	A
T <sub>2</sub>	A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	3,93	A
T <sub>6</sub>	A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	3,80	A
T <sub>1</sub>	A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	3,80	A
T <sub>5</sub>	A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	3,73	A

Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2013).

Para la prueba de Tukey al 5% realizado para la aceptabilidad del colorante natural aplicado en el yogur, se observa que no existe diferencia estadística significativa en los tratamientos para el nivel de significancia, pero se ha considerado el mayor valor numérico para la aceptabilidad, llegando a ser de esta manera el T<sub>7</sub>, (A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>1</sub>) (Mora de castilla sin espinas + Maceración + Deshidratado 10 h. 65 °C), presentando una calificación de 4,20 que corresponde a agradable de acuerdo con la escala presentada en las hojas de catación, no existe nivel de significancia estadísticamente ya que es un grupo homogéneo, pero si numéricamente ya que la puntuación dada por los catadores varían por su apreciación diferente en cada tratamiento.

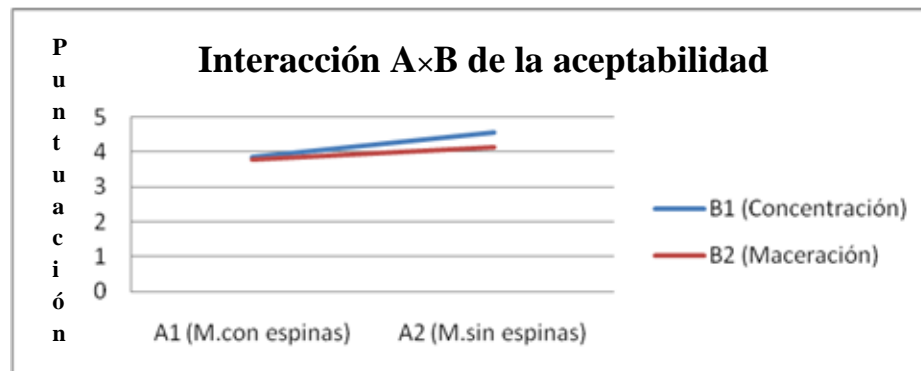
**Gráfico N° 16. Aceptabilidad, Producto terminado.**



Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2013).

En el gráfico N° 16, la barra de mayor puntaje corresponde al tratamiento T<sub>7</sub>, (A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>1</sub>) (Mora de castilla sin espinas + Maceración + Deshidratado 10 h. 65 °C), con una puntuación de 4,20 al utilizar los factores anteriormente descritos se obtuvo un colorante con un alto nivel de pureza, seguido por la barra que corresponde al tratamiento T<sub>8</sub>, (A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>) (Mora de castilla sin espinas + Maceración + Deshidratado 12 h. 65 °C), con un valor de 4,10. Mientras tanto el tratamiento T<sub>5</sub> (A<sub>2</sub>B<sub>1</sub>C<sub>1</sub>) (Mora de castilla sin espinas + Concentración + Deshidratado 10 h. 65 °C), siendo el de menor puntaje de acuerdo con la tabla N° 16, esto es debido a la apreciación diferente por parte de los catadores.

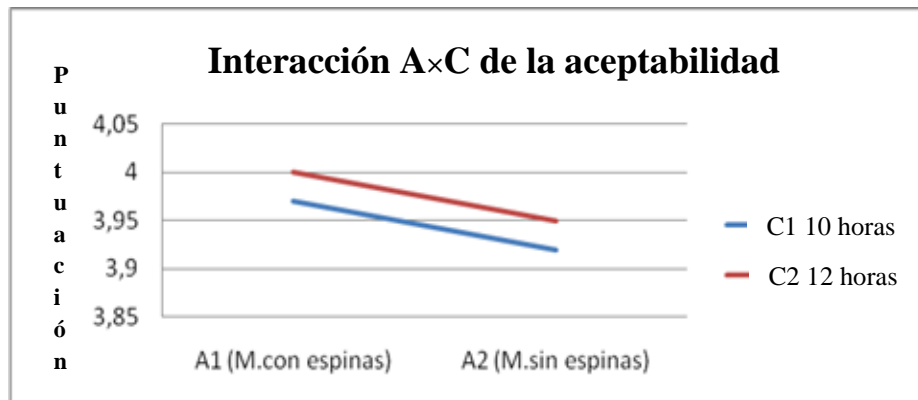
**Gráfico N° 17. Interacción A×B en la Aceptabilidad del yogur**



Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2013).

En el gráfico N° 17, se presenta la interacción que existe entre el Factor A (variedades de mora) con el Factor B (métodos de extracción), observándose claramente la diferencia significativa por la intersección que se presenta, incidiendo las variedades de mora con los métodos de extracción en el atributo aceptabilidad para la obtención de colorante natural. Como se observa en el gráfico al utilizar la variedad de mora de castilla sin espinas con una maceración de 72 horas será el mejor que al utilizar mora de castilla con espinas y un deshidratado directo.

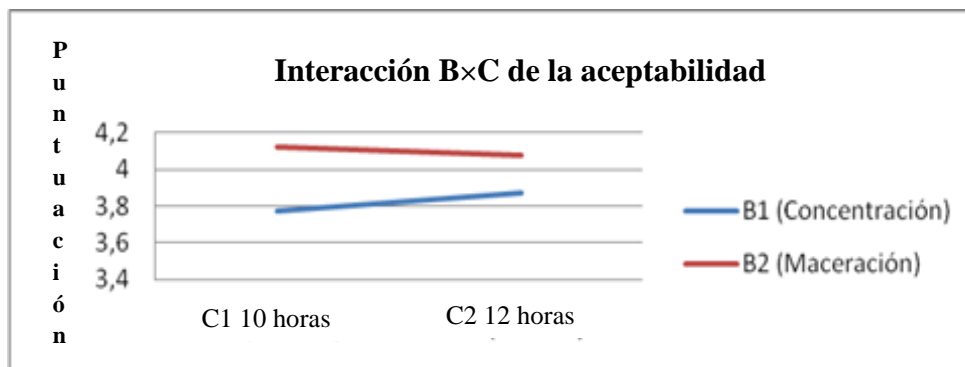
**Gráfico N° 18. Interacción A×C en la Aceptabilidad del yogur**



Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2013).

En el grafico N° 18, se presenta la interacción que existe entre el Factor A (variedades de mora) con el Factor C (tiempos de deshidratado), donde no existe significancia al no existir una intersección entre las líneas para la obtención de colorante natural. Se puede observar claramente que la aplicación de los dos tiempos de 10 y 12 horas es inversamente proporcional a las variedades de mora empleadas ya que a mayor tiempo de exposición para el deshidratado decrece la opinión de los catadores afectando al producto final.

**Gráfico N° 19. Interacción B×C en la Aceptabilidad del yogur**



Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2013).

Grafico N° 19, se presenta la interacción que existe entre el Factor B (métodos de extracción), y Factor C (Tiempos de deshidratado), observándose que al igual que en el gráfico anterior no existe diferencia significativa, en la cual no incide los métodos

de extracción con los tiempos de deshidratado en el atributo aceptabilidad para la obtención de colorante natural.

Para el método de maceración la línea se mantiene constante y para el deshidratado existe un mínimo ascenso aplicando un deshidratado por un tiempo de 12 horas.

De acuerdo a los resultados de los análisis sensoriales y organolépticos realizados y tomando en cuenta los factores de estudio en la presente investigación, considerando los factores color, olor y textura como importantes para la determinación del mejor tratamiento mediante la aceptabilidad, ya que es una variable dependiente de los demás factores de estudio; se considera como mejor tratamiento al T<sub>7</sub>, (A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>1</sub>) (Mora de castilla sin espinas + Maceración + Deshidratado 10 h. 65 °C) siendo atributo sensorial importante, la aceptabilidad se puede decir que es una recopilación de las características evaluadas, habiendo incidido la utilización de mora de castilla sin espinas, una maceración y un tiempo de 10 horas para la extracción del colorante natural de mora (antocianina).

Aclarando también, que los otros atributos analizados como color, olor y textura presentan valores similares en los tratamientos y no existen diferencias considerables. En tal virtud, se selecciona como mejor tratamiento al T<sub>7</sub>, (A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>1</sub>) (Mora de castilla sin espinas + Maceración + Deshidratado 10 h. 65 °C), ya que posee la mayor valoración en el atributo aceptabilidad con una ponderación de 4,20 puntos.

### 4.3. Analisis de Correlación y Regresion simple

El valor de Y priorizado es la Aceptabilidad del yogur y el de X son las características restantes.

**Tabla N° 17. Analisis de correlación.**

Aceptabilidad	Coefficiente de Correlación (r)	Coefficiente de Regresión (b)	Coefficiente de Determinación (R%)
<b>Color</b>	0,6977561	0,70	45,79
<b>Olor</b>	-0,04667	0,16	0,22
<b>Textura</b>	0,437206	0,41	19,11

Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2013).

#### 4.3.1. Coeficiente de correlación (r)

En la tabla N° 17, se indica el análisis de las variables cualitativas de los 3 atributos analizados y tomando como prioritario a la aceptabilidad, éste análisis nos ayudan a determinar la relación que existe entre el color, olor y textura, mediante el análisis de correlación y regresión. Se observa, que existe correlación entre la variable color (0,70), este atributo sensorial fue incidente en la calificación otorgada por los catadores, debido a que el color predominante caracterizaron al producto en estudio.

#### 4.3.2. Coeficiente de Regresión (b)

Las variables que incrementaron la aceptabilidad fueron: el color, olor y textura del colorante, es decir que, las variedades de mora y métodos de extracción utilizados en la obtención de colorante natural de mora influyen en la aceptación del producto.

#### 4.3.3. Coeficiente de Determinación (R%)

De acuerdo al análisis estadístico se obtuvo un 45,79 % de coeficiente de determinación que corresponde a la variable color, es decir que el atributo color influye en la aceptabilidad del colorante aplicado a una bebida fermentada (yogur) por parte de los catadores.

#### 4.4. ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICOS EN EL PRODUCTO TERMINADO

**Tabla N° 18. Análisis de pH en los tratamientos.**

Tratamientos	Resultados de pH (medias)	Norma permitida
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	3,41	<b>NTE INEN 389</b> <b>NTE INEN 783</b>  <b>(3,3 – 3,5)</b>
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	3,49	
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub>	3,43	
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	3,42	
A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	3,47	
A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	3,45	
A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub>	3,43	
A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	3,43	

Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2013).

Los análisis de pH en los tratamientos aplicando en método NTE INEN 783, donde los valores se encuentran dentro de los rangos que permite la norma NTE INEN 389, que va desde 3,3 a 3,5 para colorante antocianina ya que si se obtiene valores altos de pH su color tiende a tornarse un tanto azul.

**Tabla N° 19. Análisis de pesos en los tratamientos.**

Tratamientos	Resultados de pesos (medias) (g)	Norma permitida
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	47,5	<b>NTE INEN 2074</b>
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	48,0	
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub>	44,5	
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	43,5	
A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	46,0	
A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	46,5	
A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub>	44,3	
A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	43,0	

Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2013).

Analizando el peso en los tratamientos, el T<sub>2</sub>, (A<sub>1</sub>B<sub>1</sub>C<sub>2</sub>) (Mora de castilla con espinas + Concentración + Deshidratado 12 h. 65 °C) es el mejor en rendimiento ya que su valor es el más alto con 48 gramos. Seguido por el tratamiento T<sub>1</sub>, (A<sub>1</sub>B<sub>1</sub>C<sub>1</sub>) (Mora de castilla con espinas + Concentración + Deshidratado 10 h. 65 °C), con un valor de 47,5 gramos.

**Tabla N° 20. Análisis de humedad en los tratamientos.**

Tratamientos	Resultados de humedad (medias) (%)	Norma permitida
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	6,43	<b>NTC 409</b> <b>(5 – 6,5)</b>
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	6,12	
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub>	6,43	
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	5,95	
A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	6,35	
A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	5,79	
A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub>	5,80	
A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	5,56	

Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2013).

En el análisis de humedad de la tabla N° 20, se observa que mayor humedad tiene el T<sub>1</sub>, (A<sub>1</sub>B<sub>1</sub>C<sub>1</sub>) (Mora de castilla con espinas + Concentración + Deshidratado 10 h. 65 °C) y T<sub>3</sub>, (A<sub>1</sub>B<sub>2</sub>C<sub>1</sub>) (Mora de castilla con espinas + Maceración + Deshidratado 10 h. 65 °C), esto debido a los procesos de sometimiento leve de deshidratación, al compararlo con la norma permitida NTC 409 encontrándose entre 3 y 6% , se puede adicionar que nuestros resultados están dentro y un tanto elevados de acuerdo a lo permitido por la norma.

**Tabla N° 21. Análisis microbiológicos en el producto terminado.**

<b>ANÁLISIS BROMATOLÓGICO</b>			
<b>Muestra</b>	<b>Código</b>	<b>Resultado</b>	
		<b>pH</b>	<b>Humedad</b>
Colorante natural de mora	Mr1	3,43	5,80%
<b>Método</b>		INEN 783	Balanza det. de humedad, Methel;(AOAC,24,003)
<b>ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO</b>			
		<b>COLIFORMES TOTALES</b>	<b>MOHOS</b>
<b>Muestra</b>	<b>Código</b>	<b>Resultado</b>	
Colorante natural de mora	Mr1	Ausencia	110 UFC/g
<b>Método</b>		ISO 7954. Método de Rutina NF V08-050	Recuento de mohos NF V 08-059, ISO 7954
		<b>LEVADURAS</b>	
<b>Muestra</b>	<b>Código</b>	<b>Resultado</b>	
Colorante natural de mora	Mr1	Ausencia	
<b>Método</b>		Recuento de levaduras NF V 08-059. ISO 7402	

Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2013).

En la tabla N° 21, se aprecia los resultados de las pruebas microbiológicas aplicadas al T<sub>7</sub>, (A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>1</sub>) (Mora de castilla sin espinas + Maceración + Deshidratación de 10 horas a 65 °C), indicando el cumplimiento de los requisitos microbiológicos encontrándose en un rango óptimo establecido en la Norma Técnica Colombiana NTC ICONTEC 409 y 440 para colorante natural (antocianina) y de acuerdo a los análisis es apto para el consumo humano.



#### 4.4.1. ESPECTROFOTOMETRIA

##### **Evaluación espectrofotométrica del contenido de antocianinas en el colorante obtenido**

Para calcular la concentración de antocianinas en el extracto crudo se utilizó la Ley de Beer Lambert. Se hizo una dilución acuosa del extracto obtenido (1 g en 100 ml de agua destilada) y se determinó la absorbancia en un espectrofotómetro a la longitud de onda de máxima absorción para antocianinas, y se expresó en gramos de cianidina -3- glucósido /Kg de pulpa de mora de Castilla (*Rubus Glaucus benth*).

Las cuales se leyeron junto con el extracto de antocianinas, en un espectrofotómetro GENESYS 10 a una longitud de onda de 500, 510, 520, 530, 540, 550, 560, 570, 580, (Gomara, F. 2004), y por la utilización de la fórmula de Beer Lambert se determinó la concentración de antocianinas en la muestra expresada como g de cianidina -3- glucósido /Kg de pulpa de mora *Rubus Glaucus benth* (Xueming, L. 2004).

Se encontró que el extracto metanólico de mora de castilla sin espinas presenta un contenido de antocianinas de 1,578 g/kg de pulpa; reportado como cianidina -3- glucósido (Gráfico N° 20), que según estudios realizados por Xueming Liu, en 2004, es la antocianina mayoritaria en mora.

El contenido de antocianinas totales encontrado en el extracto de mora de Castilla (*Rubus Glaucus benth*), 1,578 g/kg cianidina-3-glucósido, comparado con estudios realizados en América del sur, que reportan valores de 1,100 g/Kg (Moreno, A. 2002).

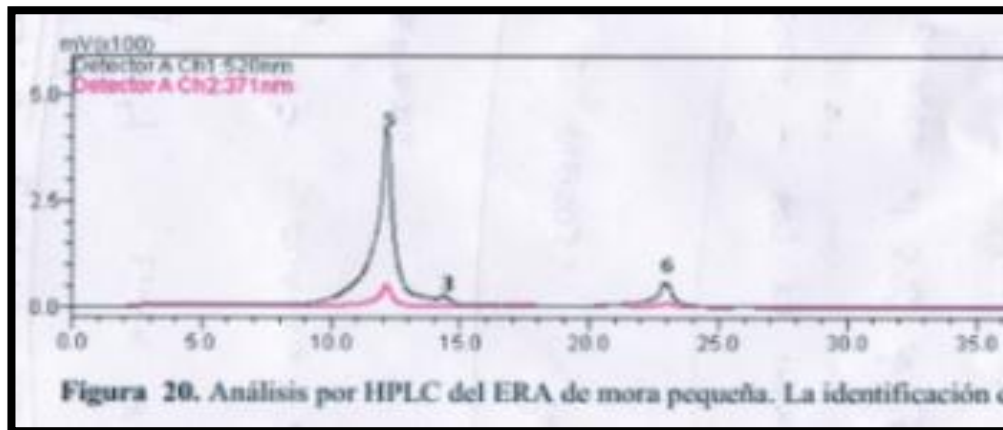
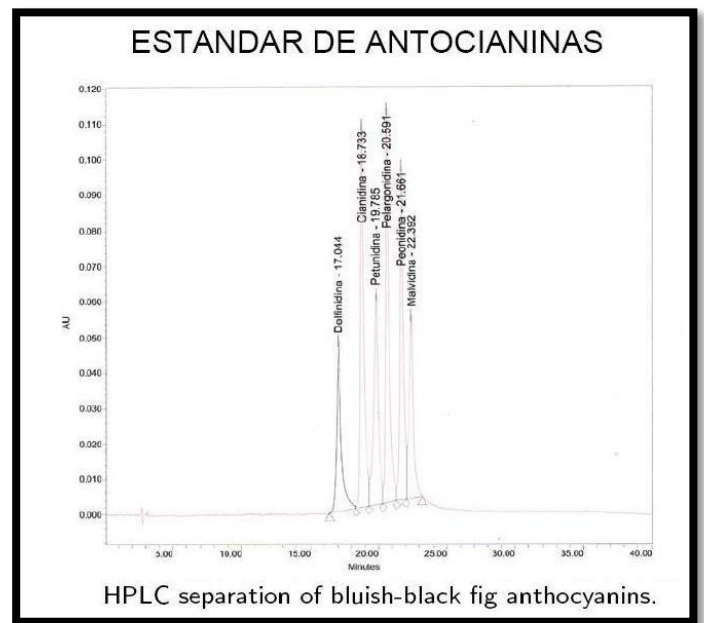
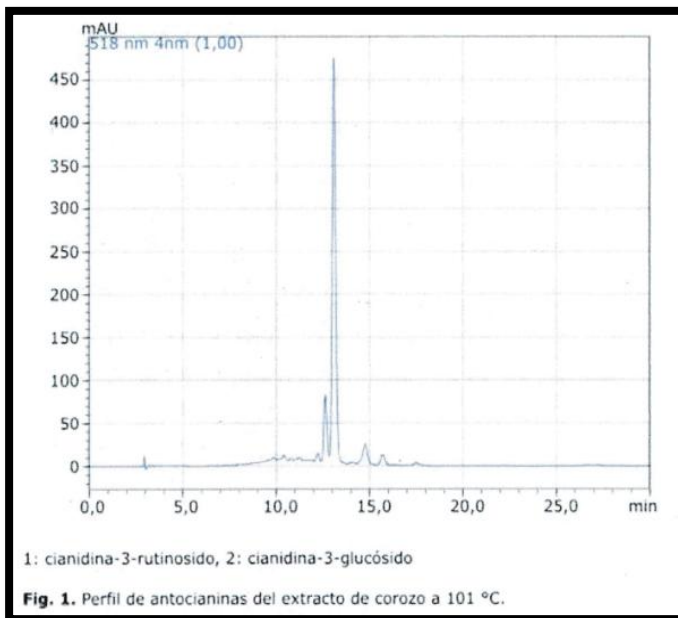
Estas variaciones en el contenido total de antocianinas en frutos de mora se deben al clima, la altura, el área de producción y la especie que se trabaje.

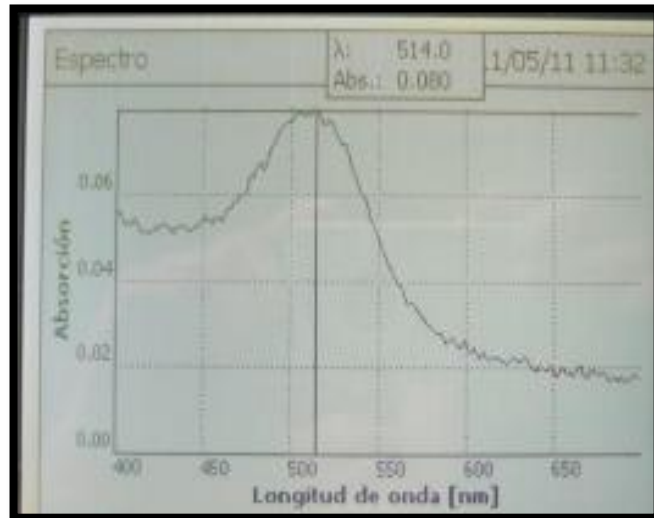
Los resultados obtenidos permiten inferir que este extracto presenta una importante capacidad colorante y antioxidante.

En el gráfico N° 20 se muestra el espectro de absorción del colorante natural de mora, en donde se observaron dos longitudes de máxima absorbancia, una a 500 nm y la otra a 570 nm. Estos dos valores de máxima absorbancia se ha reportado que son característicos de cianidina -3- glucósido, respectivamente (Bilyk, A. 2000).

La proporción de antocianinas individuales se calculó a partir de las contribuciones de las áreas de los picos con respecto al total de antocianinas en el estándar.

Gráfico N° 20. Espectrofotometría de la antocianina en la mora y sus estándares.





Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2013).

La cromatografía líquida (HPLC), es una técnica utilizada para separar los componentes de una mezcla. Consiste en una fase estacionaria no polar (columna) y una fase móvil. La fase estacionaria es sílica que se ha tratado con  $\text{RMe}_2\text{SiCl}$ .

La fase móvil actúa de portador de la muestra. La muestra en solución es inyectada en la fase móvil. Los componentes de la solución emigran de acuerdo a las interacciones no-covalentes de los compuestos con la columna. Estas interacciones químicas, determinan la separación de los contenidos en la muestra.

La utilización de los diferentes detectores dependerá de la naturaleza de los compuestos a determinar.

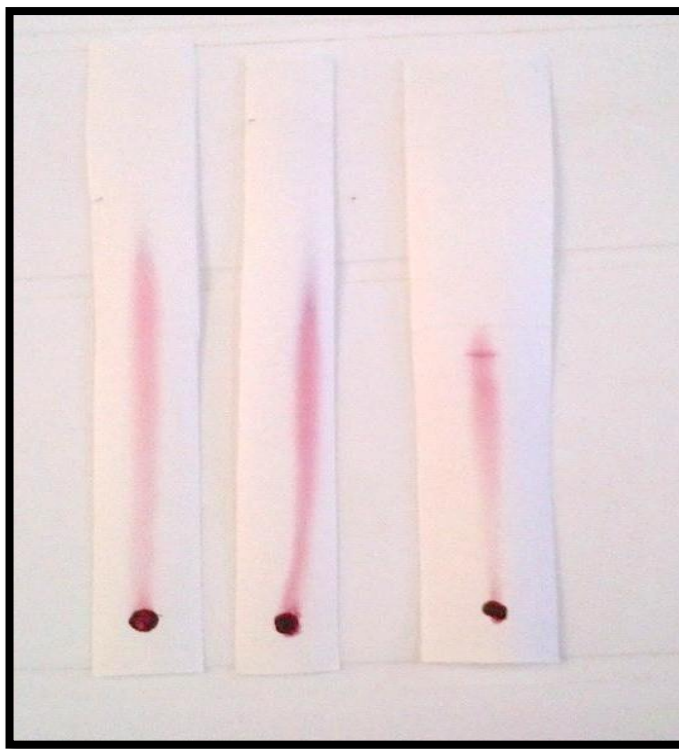
Para la comparación de las diferentes técnicas aplicadas en esta investigación nos da como resultado que existe igualdad en cuanto a la espectrofotometría y una cromatografía líquida de alta resolución en la que se encuentran la cianidina-3-glicosido en los picos 514, 518, 520 (nm).

#### 4.4.2. CROMATOGRAFIA DE PAPEL

El cromatograma obtenido revela la existencia de compuestos coloreados en el extracto, evidenciándose por la aparición de la mancha superior de color rojizo (Gráfico N° 21), que se pudo observar a simple vista; de acuerdo con la clasificación por color esta mancha cromatografía corresponde a las antocianinas (cianidina-3-glucósido), flavonoides responsables de los colores de flores, hojas y frutas, entre las cuales se encuentra la mora de castilla *Rubus Glaucus benth.* (Xueming, L. 2004).

En la cromatografía de papel (Gráfico N° 21), se puede apreciar que la composición de la fracción roja (antocianina, cianidina -3- glucósido) que es el pigmento que se han encontrado en mayor proporción, se determinó la cantidad de antocianina mediante la distancia recorrida tanto del colorante como del solvente.

**Gráfico N° 21. Cromatografía de papel**



Cromatografía de papel (Muestra A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>1</sub>, Mora de castilla sin espinas + Maceración + Deshidratado 10 h. 65 °C)

$$R_f = \text{longitud compuesto} / \text{longitud eluyente}$$

Muestras	Distancia recorrida por la mezcla eluyente	Distancia recorridas por las muestras	Rf de las muestras
Etanol	13,0 cm	8,5 cm	0,653
Metanol	13,0 cm	6,0 cm	0,461
Agua	8,0 cm	3,0 cm	0,375

Colorantes Naturales					
Propiedades de las antocianidinas comunes <sup>1</sup>					
Antocianidina	Rf(x100) en			Color Visible	$\lambda_{max}$ nm en MeOH-HCl
	Forestal	Fórmico	BAW		
Pelargonidina	68	33	80	rojo	530
Cianidina	49		68	magenta	535
Peonidina	63	30	71	magenta	532
Delfinidina	32	13	42	púrpura	546
Petunidina	46	20	52	púrpura	543
Malvidina	60	27	58	púrpura	542

Propiedades de las antocianinas comunes <sup>1</sup>					
Antocianina	Rf(x100)				$\lambda_{max}$ nm en MeOH-HCl
	BAW	Bu.HCl	HOAc-HCl	1%HCl	
Cianidin-					
3-glucósido	44	38	35	14	506
3,5-diglucósido	31	14	45	23	504
3-galactósido	51	49	57	18	513
	46	51	—	15	508
	30	10	70	38	497

Fuente: (Lock, O. 2000).

La distribución de las antocianinas basadas en su composición ocurre más frecuentemente en aproximadamente el 50% con cianidina, con 12% para pelargonidina y delfinidina, y 7% para petunidina y malvidina.

Para glicósidos, los 3 – glicósidos tienen una ocurrencia 2.5 veces mayor que los 3,5 – diglicosidos, siendo el más común el cianidina -3- glucósido.

#### 4.4.3. ANÁLISIS ECONÓMICO

CONCEPTO		
Costo de Fabricación		
Materia Prima e Insumos	Cantidad	Costo
Mora de castilla sin espinas	1 kg	2.00
Alcohol	1 lt	2.90
Energía	4 KW	0.16
Platos desechables	1 paquete	0.50
Envases	1	0.60
Subtotal		6.66
Costo administrativo		0.66
Subtotal		7.32
10% depreciación		0.73
Total		8.05
Costo de fabricación		10.00
Utilidad		1.95
Beneficio/costo		0.24

Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2013).

En la tabla N° 22, de la relación Beneficio Costo del mejor tratamiento del colorante natural de mora, se observa que al vender el producto a 10 USD, la relación beneficio costo es de 1.95 USD, mientras que considerando la unidad de inversión para verificar el nivel de ganancia por cada dólar invertido se aplicó la ecuación siguiente:

$$GUI = \frac{1 \times BCT}{TG} \qquad GUI = \frac{1 \times 10,00}{8,05} \qquad GUI = 1,24$$

Es decir un beneficio/costo que por cada dólar invertido se obtiene una ganancia de 0,24 USD, por cada 50 g de producto vendido.

## 5. VERIFICACION DE HIPOTESIS

Para la siguiente investigación se plantearon las siguientes hipótesis:

**H<sub>0</sub>:** En la extracción del colorante de dos variedades de mora y su utilización como sustituto en el yogur no altera las características organolépticas y de calidad del producto final.

**H<sub>1</sub>:** En la extracción del colorante de dos variedades de mora y su utilización como sustituto en el yogur altera las características organolépticas y de calidad del producto final.

Para la verificación de hipótesis, se realizó una comparación entre los valores Razón-F o Fisher calculado del análisis de varianza para la aceptabilidad del colorante natural y su aplicación en el yogur natural, con el valor de F tabulados en tablas de Fisher, para poder aceptar la hipótesis nula y si se rechaza, aceptar la hipótesis alterna.

**Tabla N° 23. Valores de Fisher comparativos del análisis de varianza para la aceptabilidad del colorante y su aplicación en el yogur natural.**

Determinación	Razón-F	Valor F tablas
<b>Factor A</b>	2,8 E <sup>-6</sup>	3,978
<b>Factor B</b>	3,64	3,978
<b>Factor C</b>	0,05	3,978
<b>Interaccion A×B</b>	0,45	3,978
<b>Interaccion A×C</b>	0,12	3,978
<b>Interaccion B×C</b>	0,20	3,978
<b>Interaccion A×B×C</b>	0,01	3,978

Fuente: (Investigación de campo. Cruz, E. García, A. 2013).

Para la verificación de hipótesis con un nivel de confianza del 95%, podemos observar que no existe diferencia significativa para los factores A, B, C y las interacciones A×B, A×C, B×C y A×B×C, por lo cual se acepta la hipótesis nula ( $H_0$ ), ya que el valor de Razón - F o Fisher calculado es mayor al valor de Fisher tabulado en cada uno de los casos detallados en la tabla anteriormente descrita.

Con lo cual se comprueba que la aplicación del colorante natural de mora en yogur natural no altera sus características organolépticas y calidad del producto final siendo similar a la coloración de los productos comerciales que utilizan colorantes sintéticos. Realizamos una comparación con una marca comercial “El Ranchito” observando una coloración semejante al producto que utiliza colorante natural, las diferentes coloraciones de algunas de las marcas de yogur que utilizan colorante artificial es fuerte y concentrado o débil.



## 6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 6.1. CONCLUSIONES

Una vez realizado el proceso de la elaboración del colorante natural de mora y su, bromatológicos, microbiológicos, organolépticos y económico se obtuvo las siguientes conclusiones.

- La mora de castilla sin espinas (*Rubus Glaucus*) fue considerada como la mejor variedad para la extracción de colorante natural ya que presentó mayor cantidad de antocianina mediante los análisis realizados como la espectrofotometría al igual que en la aplicación en el yogur con un poder colorífico mayor a la variedad de mora de castillas con espinas.
- Los métodos de extracción aplicados para la obtención del colorante natural fueron la deshidratación y maceración, considerando a la maceración como el mejor método de extracción utilizando como agente extractante alcohol al 96° acidificado al 1% con ácido cítrico lo cual le permite a la mora transmitir los compuestos antocianicos al solvente para luego realizar una separación del solvente y una deshidratación para la obtención de un producto en polvo.
- El tiempo de deshidratado utilizado para la presente investigación fue de 10 y 12 horas con una temperatura de 65 °C donde, datos reportados en la investigación nos da como el mejor tiempo de 10 horas con una temperatura de 65 °C, manteniendo sus características organolépticas
- El análisis físico químico de cada uno de los tratamientos por unidad experimental fueron: índice de madurez fisiológica que se determinó por inspección visual de color que estuvo entre 5 y 6 según la norma NTE INEN 2427, °Brix que se obtuvo entre 9 de la mora de castilla con espinas y 11 para la mora de castilla sin espinas de acuerdo con la norma NTE INEN 380 y pH con 3,5 para las dos variedades de mora de acuerdo con la norma NTE INEN 389 de

3,3 a 3,5, concluyendo que la materia prima para esta investigación estuvo acorde con la normativa establecida.

- Refiriéndonos al peso de colorante natural para la determinación del rendimiento para cada unidad experimental, donde el tratamiento T<sub>2</sub>, (A<sub>1</sub>B<sub>1</sub>C<sub>2</sub>) (Mora de castilla + Concentración + Deshidratado 12 h. 65 °C), presenta un peso de 48 gramos seguido por el tratamiento T<sub>1</sub>, (A<sub>1</sub>B<sub>1</sub>C<sub>1</sub>) (Mora de castilla + Concentración + Deshidratado (10 h. 65 °C), con un 47.5 gramos con estos datos se puede indicar que no existe mucha la diferencia en estos pero si con el ultimo rendimiento que es el tratamiento T<sub>8</sub>, (A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>) (Mora de castilla sin espinas + Maceración + Deshidratado (12 h. 65 °C), con 43 gramos.
- Se determinó que existe diferencia significativa entre los tratamientos, determinando en forma numérica el T<sub>7</sub>, (A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>1</sub>) (Mora de castilla sin espinas + Maceración + Deshidratado 10 h. 65 °C), con 4.20 en promedio entre las características organolépticas y sensoriales evaluadas (color, olor textura o granulosis y aceptabilidad), basándonos en la escala de Emma Wittig de Penna Año 2001 (1 a 5) se logró determinar que el producto es aceptable.
- El producto final obtenido del mejor tratamiento T<sub>7</sub>, (A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>1</sub>) (Mora de castilla sin espinas + Maceración + Deshidratado 10 h. 65 °C) se analizó los siguientes datos: pH en la que tenemos 3,43 realizado bajo la norma INEN 783, la humedad se encuentra en 5,80 % la cual se encuentra dentro de la norma NTE INEN 2074 la cual está en un rango de 3,5% a 5,6% del producto final y el °Brix está entre 9 y 11 realizado bajo la norma NTC 409, cada una de estas pruebas se realizó en el laboratorio del SENACYT de la Universidad Estatal de Bolívar al igual que los análisis microbiológicos encontrándose levaduras (ausencia), coliformes totales (ausencia), coliformes fecales (ausencia), mohos (110 UFC/g) encontrándose dentro del rango establecido en la Norma Técnica Colombiana NTC ICONTEC 409 y 440 para colorante natural (antocianina)

- En la extracción del colorante se obtuvo un producto en polvo de color rojizo, semejante al color original del fruto, se utilizó el método de maceración y deshidratado el cual resultó ser el más apropiado debido a que no se observaron cambios en el color, y la textura del polvo fue adecuada. Mejorando sus características físicas en el producto aplicado.
- En cuanto al análisis económico para el colorante natural de mora del mejor tratamiento T<sub>7</sub>, (A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>1</sub>) (Mora de castilla sin espinas + Maceración + Deshidratado 10 h. 65 °C), que mostro un total de egresos de 8.05 USD al mismo que se le añadió un 12% resultando un precio de comercialización de 10.00 USD en la cual se obtiene una ganancia de 1.95 USD por cada 50g, de producto vendido. Obteniendo un beneficio-costo de 0,24 USD por cada dólar invertido.

## 6.2. RECOMENDACIONES

Tomando en cuenta que el presente trabajo de investigación está enfocado a un producto novedoso nos permitimos recomendar lo siguiente:

- Utilizar la variedad de mora de castilla sin espinas (*Rubus Glaucus*) que se encuentre próximo a la completa madurez fisiológica, lo cual permite un rendimiento óptimo en la extracción del colorante, ya que presenta mayor cantidad de antocianinas que aparecen cerca de la maduración.
- El tiempo óptimo para la extracción de antocianina (colorante) es de 10 horas a una temperatura constante de 65 °C, el cual mantiene el color y olor característico de la fruta, si se somete a mayor tiempo se puede dar lugar al oscurecimiento no enzimático o reacciones de Maillard, además de oxidación que puede propiciar cambios de color.
- Mediante maceración se obtuvo un producto en polvo de color rojizo, semejante al color original del jugo, este método resultó ser el más apropiado debido a que no se observaron cambios en el color.
- En la extracción del colorante natural debe tener en cuenta varios factores, entre ellos, el pH, ya que de este factor dependerá el color del producto final, también se debe utilizar envases de vidrio de color ámbar debido a que la antocianina presente en el colorante natural es fotosensible y puede perder el color propio del colorante.
- Para la conservación del colorante natural resulta conveniente tener cuidado durante el manejo y almacenamiento del producto en polvo obtenido por ser altamente higroscópico, y así evitar la formación de grumos por el aumento de la humedad.
- Para eliminar el alcohol presente en el extracto obtenido mediante maceración se debe utilizar un rotavapor a una temperatura relativamente baja a fin de que el

colorante natural no pierda el color. Generalmente, la evaporación deja el alimento dos o tres veces más concentrado que en su estado líquido.

- Durante el proceso de extracción de colorante de mora, se debe tener muy en cuenta las BPM, tanto en la manipulación de insumos, equipos, utensilios y materiales, ya que esto garantiza que el producto sea apto para el consumo humano y cumpla con normas de calidad.
- Realizar la maceración sin la presencia de luz a temperatura de 10 °C cuyo fin es el de mantener todos los principios activos que contiene la mora, ya que son muy sensibles al contacto con la luz y temperatura.
- En la aplicación de colorante natural en el yogur, la relación debe mantenerse dentro de los rangos del 1 – 1.5% dados en la norma NTE INEN 2395 y 710. Pese a ser un colorante natural su utilización no debe ser indistinta a los demás aditivos que se adicionen a los productos procesados.

## 7. RESUMEN Y SUMMARY

### 7.1. RESUMEN

La presente investigación se realizó en la Planta de Frutas y Hortalizas de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente de la Universidad Estatal de Bolívar. Los objetivos de esta investigación fueron: Obtención de colorante natural a partir de dos variedades de mora (*Rubus Glaucus*) mediante la utilización de dos métodos de extracción y dos tiempos de deshidratación y su aplicación en productos lácteos, en la Universidad Estatal de Bolívar. El material experimental utilizado fueron, las variedades de mora de castilla (con y sin espinas), métodos de extracción (deshidratado, maceración) y dos tiempos de deshidratado (10 y 12 horas) con un diseño de bloques completamente al azar con arreglo factorial  $A \times B \times C$  (DBCA) para determinar el mejor tratamiento. El análisis funcional se basó en una prueba de Tukey al 5% para comparar promedios de tratamientos y un análisis de regresión simple entre las variables más lógicas. Del análisis estadístico se llegó a determinar el mejor tratamiento al  $T_7$ , ( $A_2B_2C_1$ ) (Mora de castilla sin espinas + Maceración + Deshidratado 10 h. 65 °C), dirigida a la industria láctea, siendo apto para aplicación en bebidas fermentadas (yogur). Se realizaron análisis físicos a la materia prima, mismos que están sujetos a la normativa de control. En el mejor tratamiento se realizaron los análisis microbiológicos (coliformes, hongos y levaduras) y bromatológicos (pH, °Brix, Humedad), mismo que se encuentra dentro de lo establecido por la Norma NTC 409 y 440 para colorante natural con 3.35 de pH, 8 °Brix y 5.28% de humedad. Las antocianinas presentan una alta coloración en medio ácido debido a que contienen un cromóforo con ocho dobles enlaces.

La concentración de antocianinas se mide por medio de la absorbancia en la región visible (500 – 570 nm). Se comparó la extracción con tres disolventes (metanol, etanol y agua) para la determinación de cianidina-3-glucósido mediante cromatografía de papel. Se determinó que hay diferencia significativa en la mora de castilla sin espinas en determinación del pigmento monomérico de la antocianina. Los resultados de las pruebas microbiológicas aplicadas al  $T_7$ , ( $A_2B_2C_1$ ) (Mora de castilla sin espinas + Maceración + Deshidratación de 10 horas a 65 °C), indicando

el cumplimiento de los requisitos microbiológicos, los cuales fueron, levaduras (ausencia), coliformes totales (ausencia), coliformes fecales (ausencia), mohos (110 UFC/g) encontrándose dentro del rango establecido en la Norma Técnica Colombiana NTC ICONTEC 409 y 440 para colorante natural (antocianina).

De acuerdo al análisis económico para el colorante natural de mora del mejor tratamiento T<sub>7</sub>, (A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>1</sub>) (Mora de castilla sin espinas + Maceración + Deshidratado 10 h. 65 °C), donde se obtuvo un total de egresos de 8.05 USD al mismo que se le añadió un 12% resultando un precio de comercialización de 10.00 USD en la cual se obtiene una ganancia de 1.95 USD por cada 50g, de producto vendido. Dando un beneficio/costo de 0.24 USD por cada dólar invertido.

## 7.2. SUMMARY

This research was conducted at the plant of fruits and vegetables of the Faculty of Science Agricultural, Natural Resources and the Environment of the State University of Bolivar. The objectives of this research were: Obtaining natural coloring from two varieties of blackberry (*Rubus Glaucus*) through the use of two methods of removal and two times of dehydration and its application in dairy products. Bolivar State University. Physical analysis was carried out to the raw material, which is subject to the rules of control. The material used in the experiment were the varieties of blackberry de Castilla (with and without bones), extraction methods (dehydrated, maceration) and two times of dehydrated (10 and 12 hours) with a randomized complete block design with a factorial arrangement  $A \times B \times C$  (DBC) to determine the best treatment. The functional analysis was based on a Tukey test at the 5% to compare averages of treatments and a simple regression analysis between the more logical variables. The statistical analysis is to determine that  $T_7, (A_2B_2C_1)$  (Mora de Castilla without thorns + Maceration + Dehydrated 10 h. 65 °C) addressed to the dairy industry, being suitable for application in fermented beverages (yogur). Physical analysis was carried out to the raw material, and these are subject to the rules of control. In the best treatment is carried out the analysis of the finished product such as microbiological (coliform bacteria, fungi and yeast) and Bromatológicos (Ph, °Brix, humidity), Same that is located inside of rule established by the NTC 409 and 440 for natural coloring with 3.35 pH, 8 °Brix and 5.28 % of moisture. The anthocyanins present a high coloring in an acid medium because they contain a chromophore with eight double bonds.

The concentration of anthocyanins is measured by means of the absorbance in the visible region (500 - 570 nm). The removal was compared with three solvents (methanol, ethanol, and water) for the determination of cianidina-3-glycoside by paper chromatography. It was determined that there is significant difference in the Mora de Castilla without thorns in determination of the pigment of the monomeric anthocyanin. The results of the microbiological tests applied to the  $T_7, (A_2B_2C_1)$  (Mora de Castilla without thorns + Maceration + Dehydration for 10 hours at 65 °C), indicating compliance with the microbiological requirements, Which were, yeasts



(absence), total coliforms (absence), fecal coliforms (absence), molds (110 CFU/g) found within the range established in the Technical Standard Colombian NTC ICONTEC 409 and 440 for natural coloring (anthocyanin).

According to the economic analysis for the natural coloring of mora the best treatment T<sub>7</sub>, (A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>1</sub>) (Mora de Castilla without thorns + Maceration + Dehydrated 10 h. 65 °C), where we obtained a total discharges of 8.05 USD at the same that it added a 12% resulting in a price of 10.00 USD marketing which makes a profit of 1.95 USD per 50g of product sold. Giving a benefit/cost of 0.24 USD per each dollar invested.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

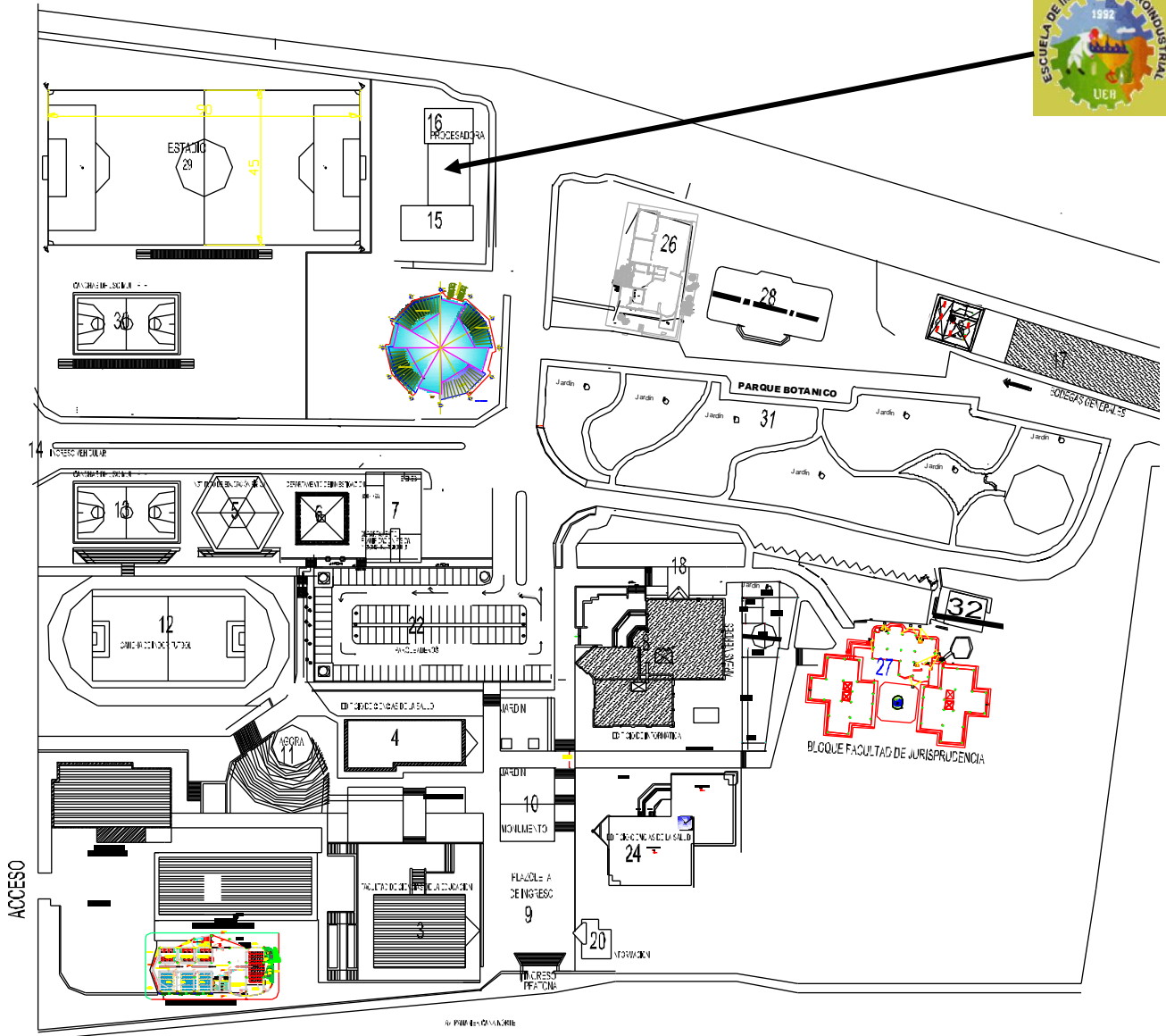
- ALIMENTOS PARA CURAR. 2011. Beneficios de la Antocianina, disponible en : <http://alimentosparacurar.com/n/3675/beneficios-de-la-antocianina-pigmento-antioxidante-natural.html>
- ANALIZA CALIDAD. 2005. F. Accum. Disponible en: <http://www.analizacalidad.com/docftp/fi192col.pdf>
- ANAYA LANG Ana Luisa. 2003. Ecología química - Página 52
- ARENA L y LÓPEZ A, 2004. Industria Química en Alimentos
- BADUI, Dergal. 1993. Química de los Alimentos. Pág. 240-250.
- BIEDERMAN, Julián. 2002. Colorante Alimentario. Consultado 12/09/2012 [http://es.wikipedia.org/wiki/Colorante\\_alimentario#Usos](http://es.wikipedia.org/wiki/Colorante_alimentario#Usos).
- Bylik, Andrea. 2000. BIOTECNOLOGÍA ALIMENTARIA. 2005. Noriega Editores, Editorial Limusa S.A. de C.V.
- BROWN, George Granger, 2004 Operaciones Básicas de la Ingeniería Química. Editorial Marín.2004.
- BURRIEL Martí. 2008. Química Analítica Cualitativa.
- CLAVIJO Pedro. 2008. Centro de Investigación “La Selva”.
- CONTENTO, Antonio. 2005. Nuevos Métodos Fotométricos y Cromatograficos para la Determinación de Colorantes Rojos en Alimentos. Pág. 93-95.
- COLOR QUÍMICOS S.C.A. 2003 Colorantes Para La Industria De Alimentos, Medellín Colombia,

- CUEVAS, Montilla E. 2008. Análisis y caracterización de antocianinas en diferentes variedades de maíz (*zea mays*) Boliviano. Consultado 20/02/2013. ([http://educon.javeriana.edu.co/lagrotech/images/elyana\\_cuevas.pdf](http://educon.javeriana.edu.co/lagrotech/images/elyana_cuevas.pdf)).
- CUBERO, Nuria. 2003. Aditivos Alimentarios. España. Pág. 23-24.
- DÍAZ, A., *et al.* 2007. Espectrofotometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimetría de biomolecular. (en línea).
- ESTACIÓN Meteorológica de Laguacoto 2011
- FAO CODEX STAN. Norma general del Codex para los aditivos alimentarios. FAO. CODEX STAN 192-1995, Rev.1997-2006.
- FENNEMA, Owen. 2007 Introducción a la ciencia de los alimentos. Editorial Revelé S.A., Volumen 2, Madrid, España, pp. 468-475.
- GALVIS, J. Y HERRERA, A., 2008. Manejo Pos cosecha de Mora, Servicio Nacional de Aprendizaje (SENA) y Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia, pág. 34.
- GARCÍA GARIBAY Mariano 2003 Biotecnología alimentaria - Página 508
- GIBAJA, Segundo. 2000. Pigmentos Naturales. Universidad Nacional de San Marcos
- GOMARA, F. 2004. Desarrollo y validación de un método espectrofotométrico para cuantificación de ácido kójico. Brasil. Pág. 45-50.
- ICONTEC (Instituto Colombiano de normas Técnicas y Certificación), 2000, Norma Técnica Colombiana (NTC) 4106, Bogotá, Colombia, pág. 2-14.
- INEN 2427 Norma Técnica Ecuatoriana. Instituto Ecuatoriano de Normalización. Frutas Frescas. Mora. Requisitos.2011.

- INEN 2564 Norma Técnica Ecuatoriana. Instituto Ecuatoriano de Normalización. Bebidas lácteas. 2011
- INEN 2395 Norma Técnica Ecuatoriana. Instituto Ecuatoriano de Normalización. Leches Fermentadas. Requisitos. 2011.
- JARRIN Johan. 2007. Tecnología de los Alimentos.
- LECKER, Argentina. 2011. Colorantes Naturales, Bebidas. Consultado 13/05/2012. Disponible en: (<http://leckerargentina.com.ar/colorantes.html>).
- LINCOLN TAIZ, Eduardo Zeiger – 2006. Fisiología vegetal - Página 551
- LOCK DE UGAZ, Olga. 2007. Colorantes Naturales, Pontificia Universidad Católica del Perú. 1era edit.
- MARTÍNEZ, Alberto. 2007, Manual del Cultivo de la Mora de Castilla (*Rubus Glaucus Bent*), Primera Edición, Ambato, Ecuador, pág.7-30
- MARTÍNEZ, Vinicio. 2008. IV Seminario Nacional, Frutales de Clima Frio Moderado. Pág. 305.
- MAUPOEY Pedro Fito 2001. Introducción al Secado de Alimentos por Aire Caliente
- PRIMO, Eduardo. 2003 Química Orgánica Básica y Aplicada.
- RAMOS, A. 2003. Yogur, Kéfir y demás cultivos en leche. España. Pág. 71.
- ROBAYO\_Maria.[http://www.bdigital.unal.edu.co/3330/1/mariaolgamderoba\\_yo.2000.pdf](http://www.bdigital.unal.edu.co/3330/1/mariaolgamderoba_yo.2000.pdf). 2000.
- RONALD., *et al.* 2009. Colorantes para los Alimentos. Pág. 45-50.
- TOLEDO de Oliviera, y Correa., 2007 Los Aditivos en los Alimentos.
- XUEMING, Liu. 2008. Academia de Ciencias Agrícolas Guangdong.

# **ANEXOS**

# ANEXO 1. UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO.



Universidad Estatal de Bolívar

Planta de procesamiento de la Escuela de Ingeniería Agroindustrial

## ANEXO 2. ESQUEMA DE LA EVALUACIÓN ORGANOLÉPTICA Y SENSORIAL

### HOJA DE CATAACIONES PARA COLORANTE NATURAL

**UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIA RECURSOS NATURALES Y DEL**  
**AMBIENTE**  
**ESCUELA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

NOMBRE: ..... FECHA: .....

**Instrucciones:** Sírvase evaluar cada una de las características de calidad y aceptabilidad. Marque con una **X** el punto que mayor indique su sentido a cerca de la muestra.

CARACTERÍSTICAS DE CALIDAD	ALTERNATIVAS	VALOR	MUESTRA		
<b>Color</b>	Muy oscura	5			
	Ligeramente oscura	4			
	Ni clara ni oscura	3			
	Ligeramente clara	2			
	Muy clara	1			
<b>Olor</b>	Muy agradable	5			
	Agradable	4			
	Ni agrada ni desagrada	3			
	Desagradable	2			
	Muy desagradable	1			
<b>Granulosidad (textura)</b>	Muy fina	5			
	Fina	4			
	Ni fina ni gruesa	3			
	Gruesa	2			
	Muy gruesa	1			
<b>Aceptabilidad</b>	Muy agradable	5			
	Agradable	4			
	Ni agrada ni desagrada	3			
	Desagradable	2			
	Muy desagradable	1			

**Fuente:** Emma Wittig de Penna, 2001.

**Observaciones:** \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

### ANEXO 3. BASE DE DATOS

<b>COLOR</b>	<b>TRATAMIENTOS</b>								<b>MEDIA</b>
<b>CATADOR</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>	<b>T5</b>	<b>T6</b>	<b>T7</b>	<b>T8</b>	
<b>1</b>	4,00	4,33	4,00	2,33	3,67	3,67	4,00	4,00	<b>3,75</b>
<b>2</b>	3,33	3,33	4,33	3,00	4,67	4,33	3,67	4,00	<b>3,83</b>
<b>3</b>	3,67	3,67	4,67	2,67	4,67	3,67	4,00	4,00	<b>3,88</b>
<b>4</b>	3,33	3,67	4,67	3,00	3,67	3,67	3,67	3,67	<b>3,67</b>
<b>5</b>	4,00	4,33	4,67	3,00	4,33	3,00	4,00	4,00	<b>3,92</b>
<b>6</b>	3,00	2,67	3,67	4,00	4,67	3,33	3,00	3,00	<b>3,42</b>
<b>7</b>	3,00	3,00	4,00	3,67	3,67	2,00	3,33	3,00	<b>3,21</b>
<b>8</b>	3,00	3,67	3,00	4,00	3,33	2,33	3,33	3,67	<b>3,29</b>
<b>9</b>	3,33	2,33	3,00	3,67	3,00	3,00	3,00	3,33	<b>3,08</b>
<b>10</b>	3,33	2,33	2,00	4,00	2,67	2,33	2,00	2,00	<b>2,58</b>

<b>OLOR</b>	<b>TRATAMIENTOS</b>								<b>MEDIA</b>
<b>CATADOR</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>	<b>T5</b>	<b>T6</b>	<b>T7</b>	<b>T8</b>	
<b>1</b>	3,33	3,33	3,67	3,67	3,67	3,67	3,67	3,67	<b>3,58</b>
<b>2</b>	3,33	4,00	3,33	4,00	3,33	4,33	3,67	3,67	<b>3,71</b>
<b>3</b>	4,67	4,33	3,67	4,00	4,67	4,00	3,67	4,67	<b>4,21</b>
<b>4</b>	3,00	1,67	2,33	4,33	3,00	3,00	3,00	3,00	<b>2,92</b>
<b>5</b>	4,67	4,33	4,00	4,33	4,33	3,67	4,33	4,33	<b>4,25</b>
<b>6</b>	3,33	3,00	3,67	3,67	3,33	4,33	3,67	3,67	<b>3,58</b>
<b>7</b>	3,00	2,67	3,00	2,00	3,00	3,00	3,33	3,33	<b>2,92</b>
<b>8</b>	3,00	3,00	3,00	3,33	3,67	4,00	4,33	4,33	<b>3,58</b>
<b>9</b>	5,00	5,00	5,00	5,00	1,00	5,00	5,00	4,33	<b>4,42</b>
<b>10</b>	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,33	4,00	<b>4,04</b>



<b>TEXTURA</b>	<b>TRATAMIENTOS</b>								<b>MEDIA</b>
<b>CATADOR</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>	<b>T5</b>	<b>T6</b>	<b>T7</b>	<b>T8</b>	
<b>1</b>	4,33	4,33	4,33	4,00	4,00	4,00	4,00	3,67	<b>4,08</b>
<b>2</b>	4,33	4,00	3,67	3,67	4,33	5,00	4,33	4,00	<b>4,17</b>
<b>3</b>	4,67	4,33	4,33	4,67	5,00	5,00	4,67	4,67	<b>4,67</b>
<b>4</b>	3,67	2,00	3,00	3,33	3,67	2,33	3,67	4,00	<b>3,21</b>
<b>5</b>	4,33	4,67	4,67	4,00	4,00	4,33	4,67	4,33	<b>4,38</b>
<b>6</b>	3,67	3,67	3,00	3,67	1,67	3,33	3,00	3,33	<b>3,17</b>
<b>7</b>	4,00	3,00	2,67	3,00	2,33	3,00	4,00	4,00	<b>3,25</b>
<b>8</b>	3,00	2,67	2,67	3,00	3,00	3,67	4,00	3,33	<b>3,17</b>
<b>9</b>	3,67	4,33	3,33	3,67	3,33	3,00	2,67	2,67	<b>3,33</b>
<b>10</b>	4,33	3,67	3,67	3,00	4,00	4,33	3,33	4,00	<b>3,79</b>

<b>ACEPTABILIDAD</b>	<b>TRATAMIENTOS</b>								<b>MEDIA</b>
<b>CATADOR</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>	<b>T5</b>	<b>T6</b>	<b>T7</b>	<b>T8</b>	
<b>1</b>	4,67	4,00	4,33	4,00	4,33	3,67	3,67	4,33	<b>4,13</b>
<b>2</b>	4,00	4,67	4,33	4,33	2,00	3,67	5,00	4,33	<b>4,04</b>
<b>3</b>	4,67	4,67	4,67	4,67	4,67	4,33	4,67	5,00	<b>4,67</b>
<b>4</b>	2,67	2,00	3,00	4,00	2,67	3,33	4,67	4,00	<b>3,29</b>
<b>5</b>	3,33	4,00	4,67	4,67	4,67	4,67	4,00	4,67	<b>4,33</b>
<b>6</b>	3,33	4,00	4,00	4,00	3,67	3,00	4,33	3,00	<b>3,67</b>
<b>7</b>	3,67	4,00	3,33	3,00	3,33	4,00	3,33	3,00	<b>3,46</b>
<b>8</b>	3,00	3,33	3,33	3,67	3,67	3,00	3,67	4,33	<b>3,50</b>
<b>9</b>	4,33	4,33	4,33	4,00	4,00	4,00	4,33	4,33	<b>4,21</b>
<b>10</b>	4,33	4,33	4,33	4,33	4,33	4,33	4,33	4,00	<b>4,29</b>

## ANEXO 4. FOTOS DEL DESARROLLO DE LA INVESTIGACIÓN

### Análisis a la materia prima



Peso



pH



°Brix

### Obtención de colorante natural de mora mediante el deshidratado

Recepción MP



Lavado



Selección



Pesado



Despulpado



Tamizado



Deshidratado



Pulverizado



Envasado



Etiquetado



Almacenado



### Obtención de colorante natural de mora mediante maceración

Recepción



Selección



Lavado



Pesado



Cortado





Maceración (alcohol 96° acidificado 1%)



Filtrado



Separación



Deshidratado



Envasado



Etiquetado



Almacenado



## **ANEXO 5. GLOSARIO.**

**Toxicidad.**-La toxicidad es una medida usada para medir el grado tóxico o venenoso de algunos elementos. El estudio de los venenos se conoce como toxicología. La toxicidad puede referirse al efecto de esta sobre un organismo completo, como un ser humano, una bacteria o incluso una planta, o a una subestructura, como una «citotoxicidad».

**Intolerancia a los alimentos.**- Se entiende por intolerancia a los alimentos la incapacidad de consumir ciertos alimentos o nutrientes sin sufrir efectos adversos sobre la salud.

Los efectos pueden ser más o menos rápidos sobre la salud. La intolerancia a los alimentos se distingue de la alergia a alimentos en que esta última provoca una respuesta del sistema inmune, activando la Inmunoglobulina E (IgE); y la intolerancia no.

**Fenol.**- El fenol en forma pura es un sólido cristalino de color blanco-incoloro a temperatura ambiente. Su fórmula química es  $C_6H_5OH$ , y tiene un punto de fusión de 43 °C y un punto de ebullición de 182 °C. El fenol es un alcohol, debido a que el grupo funcional de los alcoholes es R-OH, y en el caso del fenol es Ar-OH.

**Antioxidantes.**-Es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas. La oxidación es una reacción química de transferencia de electrones de una sustancia a un agente oxidante. Las reacciones de oxidación pueden producir radicales libres que comienzan reacciones en cadena que dañan las células.

**Antineoplásicas.**-Los antineoplásicos son sustancias que impiden el desarrollo, crecimiento, o proliferación de células tumorales malignas. Estas sustancias pueden ser de origen natural, sintético o semisintético.

**Clorofilina.**- Es el pigmento de color verde presente en plantas y algas y es el elemento básico para la transformación de la energía del sol en el proceso de la fotosíntesis.

La clorofilina es un compuesto que se obtiene de la clorofila. En contraste con la clorofila, la clorofilina es soluble en agua y tiene las mismas propiedades que ella.

**Colorantes azoicos.-** Los colorantes azoicos forman parte de una familia de sustancias químicas orgánicas caracterizadas por la presencia de un grupo peculiar que contiene nitrógeno unido a anillos aromático

**Flavonoles.-** Flavonoide (del latín flavus, "amarillo") es el término genérico con que se identifica a una serie de metabolitos secundarios de las plantas.

**Fenólicos.-** Los fenoles o compuestos fenólicos son compuestos orgánicos en cuyas estructuras moleculares contienen al menos un grupo fenol, un anillo aromático unido al menos un grupo funcional. Muchos son clasificados como metabolitos secundarios de las plantas, aquellos productos biosintetizados en las plantas que poseen la característica biológica de ser productos secundarios de su metabolismo.

**Isoprenoides.-** Los terpenos o isoprenoides son una vasta y diversa clase de compuestos orgánicos derivados del isopreno (o 2-metil-1,3-butadieno), un hidrocarburo de 5 átomos de carbono. Cuando los terpenos son modificados químicamente, por ejemplo por oxidación o reorganización del esqueleto hidrocarbonado, suelen denominarse terpenoides (como la vitamina A o retinol, que contiene un átomo de oxígeno).

**Porfirina.-** Las porfirinas son el grupo prostético de las cromoproteínas porfirínicas. Está compuesto por un anillo tetrapirrólico con sustituyentes laterales y un átomo metálico en el centro, unido mediante cuatro enlaces de coordinación.

**Colorantes Indigoides Índigos.-** Es el colorante vegetal cuyo empleo es el más antiguo. Las vestiduras de las momias egipcias fueron teñidas con índigo. En muchas plantas se encuentra en forma de un glucósido, el indicán. La fórmula moléculas del índigo es  $C_{16}H_{10}N_2O_2$ . Es una sustancia insoluble en agua. Es de color azul oscuro con reflejos bronceados. Se aplica en la industria textil. Es resistente a la luz y al lavado y su bajo costo hace que sea el colorante azul más empleado.

**Colorantes Azoicos.-** Esta clase constituye el grupo mayor de tinturas. Estos colorantes se preparan copulando una amina aromática diazotada con un fenol o una amina aromática. El más sencillo de estos colorantes es el "amarillo de anilina", que corresponde al "para-amino azo-benceno".



Se usa para teñir lana y seda, su color es fugaz. Se emplea para preparar otros colorantes con dos grupos azo.

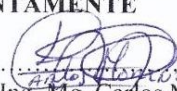
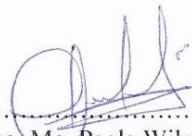
**Catión flavilio.-** También llamado 2-fenil-benzopirilio que consta de dos grupos aromáticos: un benzopirilio y un anillo fenólico; el flavilio normalmente funciona como un catión.

**Cromóforo.-** Un cromóforo es la parte o conjunto de átomos de una molécula responsable de su color. También se puede definir como una sustancia que tiene muchos electrones capaces de absorber energía o luz visible, y excitarse para así emitir diversos colores, dependiendo de las longitudes de onda de la energía emitida por el cambio de nivel energético de los electrones, de estado excitado a estado fundamental o basal.

**Higroscopia.-** Higroscopia (del griego ὑγρός hygros 'húmedo, mojado' y σκοπεῖν skopein 'observar, mirar') es la capacidad de algunas sustancias de absorber humedad del medio circundante. También es sinónimo de higrometría, siendo ésta el estudio de la humedad, sus causas y variaciones (en particular de la humedad atmosférica).



**INFORME DE RESULTADOS**

<b>Información del Solicitante:</b>	Srs. Esthela Cruz y Alexis García		
<b>Fecha de recepción:</b>	29 de Mayo del 2013		
<b>Muestras:</b>	Colorante natural de mora		
<b>Envase:</b>	Envase de vidrio		
<b>Fecha de realización:</b>	29 de Mayo del 2013		
<b>Certificado N° 014</b>			
<b>ANÁLISIS BROMATOLÓGICO</b>			
<b>Muestra</b>	<b>Código</b>	<b>Resultado</b>	
		<b>pH</b>	<b>Humedad</b>
Colorante natural de mora	Mr1	3,43	5,80%
<b>Método</b>		INEN 389	Balanza determinadora de humedad, Methel;(AOAC,24,003)
<b>ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO</b>			
		<b>COLIFORMES TOTALES</b>	<b>MOHOS</b>
<b>Muestra</b>	<b>Código</b>	<b>Resultado</b>	
Colorante natural de mora	Mr1	Ausencia	110 UFC/g
<b>Método</b>		ISO 7954. Método de Rutina NF V08-050	Recuento de mohos NF V 08-059, ISO 7954
<b>LEVADURAS</b>			
<b>Muestra</b>	<b>Código</b>	<b>Resultado</b>	
Colorante natural de mora	Mr1	Ausencia	
<b>Método</b>		Recuento de levaduras NF V 08-059. ISO 7402	
<b>ATENTAMENTE</b>			
 ..... Ing. Mg. Carlos Moreno Mejia. <b>DIRECTOR-COORDINADOR</b>		 ..... Ing. Mg. Paola Wilcaso. <b>ANALISTA-RESPONSABLE</b>	
<p>Nota. Los resultados se realizaron a partir de dos determinaciones. Los resultados consignados se refieren exclusivamente a la muestra recibida. El laboratorio no es responsable por el uso incorrecto que se hiciera de este certificado.</p>			