

ESCUELA POLITECNICA DEL EJÉRCITO

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA
CARRERA DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS
SANGOLQUÍ**

**“EXTRACCIÓN Y USO DE TRES PIGMENTOS
NATURALES A PARTIR DE TOMATE DE ÁRBOL
(*Solanum betaceum* Cav.), MORTIÑO (*Vaccinium myrtillus*
L.) Y MORA DE CASTILLA (*Rubus glaucus*) COMO
ALTERNATIVA COLORANTE NATURAL PARA
ALIMENTOS”**

PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

INGENIERO AGROPECUARIO

ELABORADO POR:

CANO LASSO ALEJANDRA PATRICIA

SANGOLQUÍ, 17 DE OCTUBRE DE 2011

EXTRACTO

En la actualidad el uso de colorantes sintéticos en los alimentos están siendo cuestionados por los consumidores a causa de los efectos perjudiciales para la salud y están optando por productos más naturales. Una de las alternativas es el uso de colorantes naturales extraídos de fuentes vegetales. Debido a esto se ha realizado el presente trabajo, que tiene como objetivo extraer tres pigmentos vegetales a partir del Mortiño (*Vaccinium myrtillus* L.) Mora de castilla (*rubus glaucus*) y del mucílago interno que recubre a la semilla del Tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.), como alternativa de sustitución parcial o total de sales de nitro en salchichas comerciales. Estos frutos poseen antocianinas, los cuales son pigmentos naturales de interés para la industria alimentaria y para su extracción, se utilizó una solución de etanol al 90° de pureza con una concentración de ácido cítrico del 0,03% a una temperatura de 60°C, los extractos se obtuvieron a partir de 1kg de mora, 1kg del mucílago del tomate de árbol y 800g de mortiño. Una vez obtenido el colorante se determinó la concentración de los extractos (mg/L) mediante el método del pH diferencial. Luego se pudo calcular la cantidad de pigmento a utilizar en 1kg de salchicha donde para mora fue 3,2g, para mortiño 6,4g y para el tomate de árbol de 6,4g con eso se procedió a la formulación de las salchichas. Para el análisis del color y su estabilidad en las salchichas en base de la pigmentación con los extractos de mora, mortiño y tomate de árbol se usó un diseño completamente al azar en análisis grupal donde se evaluaron nueve formulaciones con tres repeticiones de cada uno, para los niveles de sustitución de 75, 50 y 100% de nitro por los pigmentos vegetales ya indicados, con las cuales se procedió a evaluar el color en base a una escala hedónica de puntuaciones de 1 a 5 de acuerdo a la estabilidad del color en el producto, comparando con una muestra testigo. La estabilidad de los colorantes en cada tratamiento fue valorada durante su proceso de almacenamiento en el primero, decimo quinto y vigésimo octavo días. Por último los tratamientos más estables fueron presentados a un panel de diez catadores para su evolución organoléptica final.

Los resultados indicaron que la coloración obtenida a partir del pigmento en base de tomate de árbol es la que más se acerca a la del testigo y en cuanto a los cambios de color durante el tiempo de almacenamiento fue más estable. En cambio las coloraciones obtenidas en base de los pigmentos de mora y mortiño no fueron agradables a excepción por T1 C1N1 (color de mora con 75% de sustitución) y T4 C2N1 (color de mora con 75% de sustitución).

Palabras clave: antocianinas, pigmentos de mora, pigmentos de tomate de árbol, pigmentos de mortiño, color, niveles de sustitución.

ABSTRACT

Nowadays the use of synthetic dyes in foods are being questioned by consumers because of the adverse health effects and are opting for more natural products. One alternative is the use of natural dyes extracted from plant sources. For this reason this work has been done, which aims to extract three plant pigments from Mortiño (*Vaccinium myrtillus* L.) Mora (*Rubus glaucus*) and the inner mucilage that covers the seed of the tree tomato (*Solanum betaceum* Cav.) as an alternative to partial or total substitution of nitro salts in commercial sausages. These fruits have anthocyanins, natural pigments of interest to the food industry and for their extraction, we use a solution of ethanol at 90 ° of purity with a concentration of 0.03% citric acid at 60 ° C of temperature, the extracts are obtained from 1kg of mora, 1kg of mucilage's seed of tree tomato and 800gr of mortiño. Once the dye was got it, the concentration of the extracts (mg / L) were determined using the pH differential method. Then, we could calculate the amount of pigment used in 1kg of product where for mora was 3.2 g for mortiño was 6.4 g and tree tomato was 6.4 g with this we proceeded to the formulation of sausages. To analyze the color and stability of the sausages on the basis of pigmentation with extracts of mora, mortiño and tree tomato a completely randomized design was used in groupal analysis where nine formulations with three repetitions each were analyzed, for replacement levels of 75, 50 and 100% nitro by plant pigments already mentioned, with which we proceeded to evaluate the color based on a hedonic scale scores of 1 to 5 according to the color stability of the product, compared with a control sample. The stability of the dyes in each treatment was assessed during their storage time at one, fifteen, twenty-eight days. Finally the stable treatments were presented to a panel of ten tasters for a final organoleptic evolution.

The results indicated that the coloration obtained with tree tomato is the one that comes closest to the witness and the one about color changes during storage time was more stable. Instead, the colors obtained in the basis of mora and mortiño pigments were not pleasant except for T1 C1N1 (mora's color with 75% substitution) and T4 C2N1 (mora's color with 75% substitution).

Keywords: anthocyanin pigments, mora, tree tomato pigments, pigments mortiño, color, levels of substitution.

CERTIFICACIÓN

Ing. Gabriel Larrea, Director

Dra. Elena Mafla, Codirector

Certifican:

Que el trabajo titulado “EXTRACCIÓN Y USO DE TRES PIGMENTOS NATURALES A PARTIR DE TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum* Cav.) MORTIÑO (*Vaccinium mytillus* L.) Y MORA DE CASTILLA (*Rubus glaucus*) COMO ALTERNATIVA COLORANTE NATURAL PARA ALIMENTOS”, realizado por ALEJANDRA PATRICIA CANO LASSO, ha sido guiado y revisado periódicamente y cumple normas estatutarias establecidas por la ESPE, en el Reglamento de Estudiantes de la Escuela Politécnica del Ejército. Debido a que ha cumplido con lo ya mencionado si recomendamos su publicación.

El mencionado trabajo consta de un documento empastado y un disco compacto el cual contiene los archivos en formato portátil de Acrobat (pdf). Autorizan a ALEJANDRA PATRICIA CANO LASSO que lo entregue a la ING. PATRICIA FALCONÍ, en su calidad de Coordinador de la Carrera.

Sangolquí, 17 de octubre del 2011

Ing. Gabriel Larrea

DIRECTOR

Dra. Elena Mafla

CODIRECTO

DECLARACION DE RESPONSABILIDAD

ALEJANDRA PATRICIA CANO LASSO

Declaro que:

El proyecto de grado denominado “EXTRACCIÓN Y USO DE TRES PIGMENTOS NATURALES A PARTIR DE TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum* Cav.) MORTIÑO (*Vaccinium mytillus* L.) Y MORA DE CASTILLA (*Rubus glaucus*) COMO ALTERNATIVA COLORANTE NATURAL PARA ALIMENTOS”, ha sido desarrollado con base a una investigación exhaustiva, respetando derechos intelectuales de terceros, conforme las citas que constan al pie de las páginas correspondientes, cuyas fuentes se incorporan en la bibliografía. Consecuentemente este trabajo es de mí autoría.

En virtud de esta declaración, me responsabilizo del contenido, veracidad y alcance científico del proyecto de grado en mención.

Sangolquí, 17 de octubre del 2011

Alejandra Patricia Cano Lasso

AUTORIZACIÓN

Yo Alejandra Patricia Cano Lasso

Autorizo a la Escuela Politécnica del Ejército la publicación, en la biblioteca virtual de la Institución del trabajo “EXTRACCIÓN Y USO DE TRES PIGMENTOS NATURALES A PARTIR DE TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum* Cav.) MORTIÑO (*Vaccinium myrtillus* L.) Y MORA DE CASTILLA (*Rubus glaucus*) COMO ALTERNATIVA COLORANTE NATURAL PARA ALIMENTOS”, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi exclusiva responsabilidad y autoría.

Sangolquí, 17 de octubre del 2011

Alejandra Patricia Cano Lasso

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado principalmente a Dios quien me ha dado la fuerza y perseverancia para culminar una etapa más de mi vida, a mi madre por ser mi ejemplo de trabajo, sacrificio, entrega y amor, a mi esposo por ser mi apoyo incondicional y mi complemento, a mí hijo por ser mi motivación y a todas las personas que aman la vida, la respetan, aprenden de ella cada día y pelean por un mañana mejor.

Alejandra Patricia Cano Lasso

AGRADECIMIENTO

A Dios por ser mi fortaleza espiritual.

A mis padres por haberme apoyado con amor y sacrificio para mi formación personal y profesional.

A mi esposo quien con su infinito amor y paciencia me dio la fortaleza para cumplir todos mis sueños y culminar con la mayor de las alegrías esta etapa de mi vida.

A mi hijo quien fue mi compañero y mi empuje en los últimos tramos de culminar este trabajo.

A todos mis amigos quienes me brindaron su ayuda y apoyo en las diferentes etapas del trabajo sin importar el tiempo, estuvieron ahí con alegría y demostrando su confianza y cariño.

Al Ing. Gabriel Larrea, Dra. Elena Mafla e Ing. Gabriel Suarez que aparte de ser mis maestros fueron amigos y quienes con su ayuda y paciencia compartieron sus conocimientos sin excepción alguna para llevar a cabo este trabajo de investigación.

A la ESPE, su Carrera de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y su personal Docente, por los valiosos conocimientos impartidos.

A todas las personas que de una u otra manera colaboraron para la realización de este trabajo de investigación

Alejandra Patricia Cano Lasso

HOJA DE LEGALIZACION DE FIRMAS

ELABORADO POR

Alejandra Patricia Cano Lasso

**DIRECTORA DE LA CARRERA DE INGENIERIA EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS**

Ing. Patricia Falconí

DELEGADO UNIDAD DE ADMISION Y REGISTRO

Abg. Carlos Orozco Bravo, MSc

Lugar y fecha: _____

AUTORÍA

Las ideas expuestas en el presente trabajo de investigación, así como los resultados, discusión y conclusiones son de exclusiva responsabilidad del autor

Alejandra Patricia Cano Lasso

ÍNDICE DE CONTENIDOS

I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 OBJETIVOS.....	3
1.1.1 General.....	3
1.1.2 Específicos.....	3
 II. REVISIÓN DE LITERATURA	 4
2.1 PIGMENTOS NATURALES USADOS COMO COLORANTES EN LOS ALIMENTOS.....	4
2.2 CLASIFICACIÓN DE LOS PRINCIPALES COLORANTES.....	5
2.2.1 Colorantes Sintéticos	5
2.2.2 Colorantes Naturales.....	8
2.2.2.1 Clasificación de los principales pigmentos como colorantes.....	8
2.3 COMPUESTOS FENÓLICOS.....	11
2.3.1 Las antocianinas.....	12
2.3.1.1 Factores que afectan la estabilidad de las antocianinas	14
2.3.1.1.1 Temperatura.....	15
2.3.1.1.2 Iones metálicos	16
2.3.1.1.3 Efecto del pH sobre el color de las antocianinas	17
2.3.1.2 Determinación de las antocianinas.....	18
2.3.1.2.1 Determinación de antocianinas de forma total.	18
2.3.1.2.2 Ley de Lambert-Beer	19
2.3.1.2.3 Espectrofotometría.....	20
2.4 DESCRIPCIÓN DE LAS PLANTAS EN ESTUDIO	21

2.4.1 Mortiño (<i>Vaccinium myrtillus</i> L.)	21
2.4.2 Mora de castilla (<i>Rubus glaucus</i>).....	24
2.4.3 Tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i> Cav.).....	26
2.5 EMBUTIDOS.....	28
2.6 NITRATOS Y NITRITOS EN SALCHICHAS.....	28
2.6.1 Efectos sobre la salud por el uso de nitritos y nitratos.....	31
2.6.1.1 Formación de Metahemoglobina:	31
2.6.1.2 Formación de Nitrosaminas:	32
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
3.1 MATERIALES PARA LA EXTRACCIÓN DE LOS PIGMENTOS.	33
3.1.1 Materia prima:.....	33
3.1.2 Reactivos.....	33
3.1.3 Equipo básico.....	34
3.2 MÉTODO PARA LA EXTRACCIÓN DE LOS PIGMENTOS.	35
3.3 METODOLOGÍA PARA DETERMINAR LA CONCENTRACIÓN DE LAS ANTOCIANINAS	36
3.4 DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD DE PIGMENTO A APLICAR EN LA SALCHICHA	38
3.5 FORMULACIÓN DE SALCHICHAS	40
3.5.1 Materiales.....	40
3.5.1.1 Materia prima	40
3.5.1.2 Equipo básico:	40
3.5.2 Métodos	41
3.5.2.1 Método para la elaboración de salchichas.....	41
3.5.2.2 Procedimiento tecnológico para elaboración de salchichas	44

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
4.1 LECTURAS DE LA ABSORBANCIA DE LAS ANTOCIANINAS	46
4.2 CONCENTRACIÓN DE ANTOCIANINAS	47
4.3 DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD DE PIGMENTO A UTILIZAR EN LA FORMULACIÓN DE SALCHICHAS.....	48
4.4 ANÁLISIS DEL COLOR DE LAS SALCHICHAS	49
4.5 REGRESIONES	53
4.6 RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS.....	61
4.7 CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS.....	63
4.8 ANÁLISIS ECONÓMICO.....	65
V. CONCLUSIONES	67
VI. RECOMENDACIONES	69
VII. BIBLIOGRAFÍA	70
VIII. ANEXOS	76

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro. 2.1. Principales colorantes naturales.....	8
Cuadro. 2.2. Clasificación taxonómica del Mortiño.....	22
Cuadro. 2.3. Clasificación taxonómica de la Mora de Castilla	24
Cuadro. 2.4. Clasificación taxonómica del Tomate de árbol.....	27
Cuadro. 3.1. Resultado de solución pigmentante para utilizar en salchichas.....	39
Cuadro. 3.2. Calificación para el color de las salchichas.....	42
Cuadro. 3.3. Tratamientos.....	42
Cuadro. 3.4. Distribución de los tratamientos según el diseño completamente al azar en análisis grupal	43
Cuadro. 4.1. Concentración de antocianinas (mg/l) a partir de 100g de tomate de árbol, 100g mora y 20g del mortiño	47
Cuadro. 4.2. Cantidades de pigmento natural a utilizar en un 1kg de producto	48
Cuadro. 4.3. Cantidades de sustitución del pigmento y del nitrito de sodio para 1kg de producto.....	49
Cuadro. 4.4. Análisis de variancia del color de las salchichas en evaluaciones establecidas a los 1, 15 y 28 días en base de mora, mortiño y tomate de árbol	50
Cuadro. 4.5. Efecto de la pigmentación con tres especies vegetales (mora, mortiño y tomate de árbol) sobre la coloración en salchichas	50
Cuadro. 4.6. Efectos conjunto de la coloración de las tres especies (mora, mortiño y tomate de árbol) a tres niveles sobre la coloración en salchichas.....	52
Cuadro. 4.7. Ecuación de la regresión cuadrática y coeficiente de determinación para el color de mora en las evaluaciones 1, 15 y 28 días	54
Cuadro. 4.8. Ecuación de la regresión cuadrática y coeficiente de determinación para el color de mortiño en las evaluaciones 1, 15 y 28 días	55
Cuadro. 4.9. Ecuación de la regresión cuadrática y coeficiente de determinación para el color de tomate de árbol en las evaluaciones 1, 15 y 28 días	57

Cuadro. 4.10.	Parámetros microbiológicos para productos cárnicos cocidos.....	62
Cuadro. 4.11.	Resultado de los análisis microbiológicos tomados al día 1.....	62
Cuadro. 4.12.	Resultado de los análisis microbiológicos tomados al día 28	63
Cuadro. 4.13.	Análisis de variancia de los catadores con respecto al color, olor, textura y sabor.....	63
Cuadro. 4.14.	Evolución organoléptica del color, olor, textura y sabor de los tratamientos previamente seleccionados en base del color.....	63
Cuadro. 4.15.	Evolución organoléptica del color, olor, textura y sabor de los tratamientos previamente seleccionados en base del color.....	65
Cuadro. 4.16.	Beneficio bruto, Costo variable y Beneficio neto de los tratamientos en estudio.....	66
Cuadro. 4.17.	Análisis de dominancia de los tratamientos en estudio	66

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura. 2.1. Estructura del flavilio y la antocianina.....	13
Figura. 2.2. Estructuras de las antocianidinas más importantes.....	14
Figura. 2.3. Degradación de antocianos del jugo de uva en función de la temperatura. (a: jugo no tratado; b: 99°C por 1 hr; c: 99°C por 2hr, d: jugo comercial)	16
Figura. 2.4. Reacciones de la transformación estructural de las antocianidinas en el intervalo de pH de 1 a 7.....	17
Figura. 4.1. Espectros de absorción del tomate a pH4, 5 y pH1	46
Figura. 4.2. Espectros de absorción de la mora a pH4, 5 y pH1	46
Figura. 4.3. Espectros de absorción del mortiño a pH4, 5 y pH1	47
Figura. 4.4. Efecto de la pigmentación con tres especies vegetales (mora, mortiño y tomate de árbol) sobre la coloración en salchichas.....	51
Figura. 4.5. Efectos conjunto de la coloración de las tres especies (mora, mortiño y tomate de árbol) a tres niveles sobre la coloración en salchichas	53
Figura. 4.6. Regresión cuadrática y óptimo del nivel de sustitución del pigmento de mora al día 1	54
Figura. 4.7. Regresión cuadrática y óptimo del nivel de sustitución del pigmento de mora a los 15 días.....	54
Figura. 4.8. Regresión cuadrática y óptimo del nivel de sustitución del pigmento de mora a los 28 días.....	55
Figura. 4.9. Regresión cuadrática y óptimo del nivel de sustitución del pigmento del mortiño al día 1.....	56
Figura. 4.10. Regresión cuadrática y óptimo del nivel de sustitución del pigmento del mortiño a los 15 días.....	56
Figura. 4.11. Regresión cuadrática y óptimo del nivel de sustitución del pigmento del mortiño a los 28 días.....	57

Figura. 4.12. Regresión cuadrática y óptimo del nivel de sustitución del pigmento del tomate de árbol al día 1.....	58
Figura. 4.13. Regresión cuadrática y óptimo del nivel de sustitución del pigmento del tomate de árbol a los 15 días.....	58
Figura. 4.14. Regresión cuadrática y óptimo del nivel de sustitución del pigmento del tomate de árbol a los 28 días.....	59
Figura. 4.15. Presentación de los tratamientos realizados	61

ÍNDICE DE ANEXOS

- Anexo 1. Extracción de los pigmentos de mora, mortiño y tomate de árbol
¡Error! Marcador no definido.
- Anexo 2. Utilización de dos sistemas tampón KCl (0,025M) para pH1 y CH₃COONa (0,4M) para pH4, 5.....**¡Error! Marcador no definido.**
- Anexo 3. Pesos para cada formulación**¡Error! Marcador no definido.**
- Anexo 4. Ingredientes para la formulación de las salchichas;**¡Error! Marcador no definido.**
- Anexo 5. Evaluación del color de acuerdo a su estabilidad durante el proceso de almacenamiento primera repetición**¡Error! Marcador no definido.**
- Anexo 6. Evaluación del color de acuerdo a su estabilidad durante el proceso de almacenamiento segunda repetición.....**¡Error! Marcador no definido.**
- Anexo 7. Evaluación del color de acuerdo a su estabilidad durante el proceso de almacenamiento tercera repetición**¡Error! Marcador no definido.**
- Anexo 8. Modelo de encuesta para los catadores;**¡Error! Marcador no definido.**
- Anexo 9. Evaluación organoléptica de los catadores;**¡Error! Marcador no definido.**

I. INTRODUCCIÓN

Actualmente la industria alimentaria se ha visto sujeta a serios cambios debido a que los consumidores están optando por productos más naturales y en especial sin colorantes sintéticos, a causa de los efectos perjudiciales para la salud humana. Por este motivo el sector agroindustrial invierte muchos esfuerzos y medios en la búsqueda de nuevas alternativas, Badui (1993), manifiesta que el color de los alimentos viene a ser un atributo que tiene mucho peso dentro del juicio del consumidor, este puede llegar a ser determinante para que un producto comestible sea aceptado o rechazado.

Por lo mencionado anteriormente las nuevas tendencias para colorear los alimentos, a provocado según Badui, (1993) que en estos últimos años se eliminan del mercado los colorantes rojos sintéticos por considerarlos tóxicos; ocasionando que se incremente la demanda de pigmentos naturales principalmente en los países desarrollados.

Entre los pigmentos naturales de interés para la industria alimentaria, están las antocianinas y entre las frutas que se caracterizan por presentar un alto contenido de pigmentos naturales antociánicos se encuentran en nuestro medio, la Mora de castilla (*Rubus glaucus*), Mortiño (*Vaccinium myrtillus* L.) y el mucílago interno del Tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.), las cuales pueden ser usadas para la extracción de dichos pigmentos

En la actualidad se presentan grandes pérdidas por falta de una comercialización efectiva de las frutas mencionadas. Por lo tanto, la extracción de estos pigmentos a partir de ellas es una alternativa que puede ayudar a un mayor aprovechamiento, beneficiándose así los productores y comercializadores, pero principalmente la industria alimenticia, debido a que los pigmentos antociánicos pueden ser un sustituto eficaz de los colorantes sintéticos, brindando al consumidor final mayor seguridad en los productos que consumen.

Según Garzón, (2008) muchos investigadores tienen interés en estos pigmentos antociánicos gracias a sus posibles efectos terapéuticos y benéficos, dentro de los cuales se encuentra los efectos anticancerígenos, antitumorales, antidiabéticos, antioxidante, etc. Estas propiedades han permitido abrir una nueva perspectiva para la obtención de productos coloreados con valor agregado para el consumo humano.

En esta investigación se pretende conocer los parámetros para el proceso de extracción del colorante antocianico de la Mora de castilla (*Rubus glaucus*), Mortiño (*Vaccinium mytillus* L.) y del mucílago interno del Tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.), para posteriormente determinar la aplicabilidad como colorante en alimentos.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 General

Extraer tres pigmentos vegetales a partir del Mortiño (*Vaccinium myrtillus* L.) Mora de castilla (*Rubus glaucus*) y del mucílago interno que recubre a la semilla del Tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.), como alternativa de sustitución parcial o total de sales de nitro en salchichas comerciales.

1.1.2 Específicos

- Determinar el nivel óptimo de extracción de pigmentos naturales a partir de tres frutas andinas, por medio de la medición de la concentración obtenida de antocianinas (color rojo) mediante una solución de etanol-acido cítrico en condiciones del laboratorio.
- Establecer la mejor proporción de adición de los tres pigmentos frutales en reemplazo de la fuente de coloración química en salchichas en base a sustitución parcial y total.
- Determinar la funcionabilidad de los colorantes obtenidos (naturales) en salchicha mediante pruebas de estabilidad y organoléptico.
- Establecer los costos marginales de producción del mejor o los mejores colorantes obtenidos para uso en salchichas.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 PIGMENTOS NATURALES USADOS COMO 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 (Pedreño y Escribano 2000, Fernández, López y Almela 2001, citado por Soria *et al.*, 2007).

Los alimentos naturales tienen su propio color y lo ideal sería que se mantuviera a lo largo del proceso de manipulación e industrialización, pero la mayoría de veces no es así. Sin embargo, los consumidores prefieren en determinados alimentos un color constante, que no varíe en los diferentes lotes de fabricación de un producto y esto solo puede obtenerse modificándolo de forma artificial (Cubero y Monferrer, citado por Ramirez, Gonzales y Correa., 2007).

Badui (1993), sostiene que el color de los alimentos es definitivamente muy importante para el consumidor, ya que, siendo el primer contacto visual que tiene con ellos, es determinante para que un comestible sea aceptado o rechazado. La homogeneidad del color de los productos durante el tiempo de vida útil es fundamental. El público desea encontrar siempre el alimento con los mismos colores;

de otro modo, se descontrola y desconfía. Por esta razón, existen en el mercado diversos agentes químicos que sirven para colorear; básicamente hay de dos tipos: los naturales y los sintéticos. Entre los primeros destacan carotenoides, betalaína, clorofila y ácido carmínico, así como el caramelo; todos éstos provienen de fuentes naturales.

Por otra parte, los sintéticos se obtienen mediante un proceso químico industrial y existe una gran cantidad de ellos; sin embargo, sólo algunos están aprobados para su uso, aunque se permitan o limiten en otros países. Esta situación es muy común con estos colorantes, ya que las legislaciones europeas, de Estados Unidos y de Japón, por mencionar sólo algunas, no siempre están de acuerdo en relación con la toxicidad o inocuidad de cada uno de estos colorantes (Badui, 1993).

2.2 CLASIFICACIÓN DE LOS PRINCIPALES COLORANTES

2.2.1 Colorantes Sintéticos

Badui (1993), incluye en esta clasificación los nombres químicos y comercial, así como la clasificación de acuerdo con el Color Index (CI); este último número proviene de la Society of Dyers and Colourists, de Inglaterra, que se encarga de clasificar todas las sustancias que importen un color. Igualmente se indica la clasificación de la oficina de Food and Drug Administration (FD&C) de Estados Unidos. (FD&C), es una de las clasificaciones certificadas en los que se pueden

clasificar los colorantes, en este caso se encuentran los colorantes que se pueden utilizar en alimentos, fármacos y cosméticos.

El azul número 1, llamado azul brillante (FD&C Blue No.1), es un derivado del ácido trifenilmetano, clasificado como CI 42090; es un polvo purpura-café, con brillo metálico, DL_{50} subcutánea para ratón 4,6g/kg, es higroscópico y estable en ácidos y a la luz; tiene una máxima absorción a 360nm, inestable con agentes reductores y anhídrido sulfuroso, muy soluble en agua (20g en 100ml) y etanol e insoluble en grasas

El rojo cítrico número 2 es el 1-(2,5-dimetoxifenilazo)-2-naftol, clasificado como CI12156, y se presentan como cristales rojos de punto de fusión $156^{\circ}C$, algo soluble en agua y en etanol; se usa principalmente para colorear algunos cítricos (Badui, 1993).

El rojo número 4 (FD&C No.4) es la sal disódica del ácido 3-[(2,4-dimetil-5-sulfofenil)azo]-4-hidroxi-1-naftalensulfónico y está clasificado como CI 14700; comercialmente son cristales rojos, DL_{50} oral para ratas $>2g/kg$, máxima absorción a 500nm, soluble en agua (22g/100ml) y muy poco en etanol; algunos países prohíben su uso como colorante sintético.(Badui, 1993).

El rojo número 40 se clasifica como CI16035, es un polvo rojo oscuro, estable a pH ácidos, soluble en agua (22g/100ml) y en etanol al 50%.

El amaranto, también conocido como el rojo número 2, es la sal trisódica del ácido azonaftalensulfónico-2-naftol-3,6 disulfó, clasificado como CI 16185; es un polvo rojo-café, de máxima absorción a 522,5 nm, soluble en agua (1g/ 15ml) y poco en etanol, sus soluciones son estables a la luz y su coloración se incrementa en presencia de hidróxido de sodio; algunos países prohíben su uso por considerarlo carcinógeno y teratogénico (Badui, 1993).

El amarillo número 6 (FD&C *Yellow* No.6) es la sal disódica del ácido 1-sulfofenilazo-2-naftol-6-sulfónico, clasificado como CI15985; es un polvo naranja, inodoro, higroscópico, de máxima absorción 480 nm (en acetato de amonio), DL₅₀ oral para ratas >10 g/kg, muy solubles en agua (19g/100ml), estables en ácidos, sensible a los agentes reductores (Badui, 1993).

La eritrosina o rojo número 3 (FD&C No.3) es la sal sódica o potásita de la tetroyodofluoresceína; es un polvo rojo-café, DL₅₀ oral para ratas de 2,89g/kg, máxima absorción a 524 nm y es inestable en presencia de ácidos, luz y cobre, pero resiste las altas temperaturas; es insoluble en grasas, pero soluble en agua (9g/100ml) y poco en etanol, se clasifica como CI 45430 (Badui, 1993).

El verde número 3 (FD&C No.3) está clasificado como CI 42053, es un polvo verde oscuro o gránulos con lustre metálico, DL₅₀ oral para ratas 2g/kg, de máxima absorción a 628nm, estable en ácidos y soluble en agua (20g/100ml) (Badui, 1993).

2.2.2 Colorantes Naturales

2.2.2.1 Clasificación de los principales pigmentos como colorantes.

Cuadro. 2.1. :Principales colorantes naturales

FUENTE	AGENTE ACTIVO
Achiote, <i>Bixia orellana</i>	Bixia (carotenoide)
Azafrán, <i>Crocus sativus</i>	Crocetina (carotenoide)
Betabel, <i>Beta vulgaris</i>	Betalainas
Cúcuta, <i>Curcuma longa</i>	Curcumina
Cochinilla, <i>Dactylopius coccus</i>	Ác. Carmínico
Pimiento rojo, <i>Capsicum annum</i>	Capsantina (carotenoide)
Enocianina	Polímeros de antocianinas
Zanahoria, <i>Daucus carota</i>	β -caroteno (carotenoide)
Cempasúchil, <i>Tapetes erecta</i>	Luteína (carotenoide)
Plantas Verdes	Clorofila

FUENTE: Badui 1993

Curcumina (E100). Se obtiene a partir de las raíces y los tallos de la cúrcuma. Es de color amarillo y da este tono al polvo de curry. Su ingesta máxima es de 1mg/kg (Badui, 1993).

Riboflavina (E101). Es amarillo y se utiliza en una gran variedad de alimentos: leche, huevos y vegetales. Puede elaborarse también de manera artificial, es poco soluble en agua y su ingesta máxima diaria es de 0,5 mg/kg de peso corporal (Badui, 1993).

La cubierta de las semillas de achiote (*Bixa orellana*) contiene un colorante rojo que se usa en todo el Ecuador para la preparación de distintos tipos de comidas. Los responsables del color son los elementos bixin y norbixin, que son carotenoides solubles en aceites. Una forma típica de preparar un aliño es machacar las semillas de achiote en aceite o manteca y después mezclar con otros condimentos. En la industria alimenticia, *Bixa orellana* se usa como colorante de margarina, mantequilla, queso, helado y cereales y se denomina aditivo E-160b o annatto (Smith y Hong-Shum, citado por De la Torre *et al.*, 2008).

El betabel, el pimiento rojo y la zanahoria, que contiene betalaínas, capsantina y β -caroteno, respectivamente, se deshidratan y se muelen, y el polvo resultante se usa para colorear. También se pueden someter a un proceso extractivo y concentración del pigmento. Esto mismo ocurre con el azafrán, la cúrcuma y el achiote o anato; en estos dos últimos es más fácil dicha extracción (Badui, 1993).

En la actualidad el carmín tiene una gran importancia comercial; este compuesto se extrae de los insectos *Dactylopius coccus* (también conocidos como *Coccus cacto*), *D. indicus* y otros, que reciben el nombre genérico de cochinilla o grama (Badui, 1993).

El producto conocido como cochinilla está integrado por los cuerpos secos de las hembras adultas de estos insectos, y contienen aproximadamente 10% de ácidos carmínicos, 40% de proteína, 12% de cenizas y diversos polímeros estructurales propios del animal. Se requiere alrededor de 130000 insectos para lograr un kilogramo de cochinilla; cuando los cuerpos se muelen se obtiene una masa de color rojo muy intenso, de la cual se puede elaborar diversos derivados comerciales a base de ácido carmínico; un extracto acuoso-alcohólico, con una concentración mínima de 1,8% ácido carmínico; el carmín, que es una laca de aluminio o de aluminio-calcio y que generalmente contienen más del 50% de ácido carmínico, que representa la forma más purificada de este pigmento (Badui, 1993).

Como dato adicional el ácido carmínico (E120). De color rojo, es muy soluble en agua. Su ingesta máxima diaria es de 5 mg/kg de peso corporal.

Finalmente, cabe mencionar que algunos carotenoides se sintetizan químicamente y se emplean como colorantes; tal es el caso del β -caroteno, el β -apo-8'-carotenal, el éster etílico del ácido β -apo-8'-carotenoico y la cantaxantina, que van desde el amarillo hasta el rojo muy intenso. En el mercado se encuentra como suspensiones, geles, deshidratados, etc., para emplearse en la manufactura de margarina, mantequilla, quesos, helados, jugos, sopas, postres, etc. (Badui, 1993).

Las inflorescencias de sankurachi o bleado se agregan a las preparaciones dulces o a la colada morada para darles color. Las especies de *Amaranthus* contienen betacianinos que le dan color rojo (Cai *et al.*, citado por De la Torre *et al.*, 2008).

Las antocianinas representan un factor importante en la industria alimentaria, debido a las restricciones sanitarias hacia el uso de colorantes sintéticos (Marcano De y Hasegawa, citado por Ramirez, Gonzales y Correa., 2007).

La obtención de un colorante a partir de estos compuestos presentes en los frutos maduros de la mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth) mejora las características físicas (color) de muchos productos; además de poseer propiedades antioxidantes (Nagem y Toledo de Oliviera, citado por Ramirez, Gonzales y Correa., 2007).

Rojo de remolacha (E162). Se elabora a partir de la remolacha. No hay peligro en su consumo porque el ser humano lo excreta por la orina. Se obtiene a partir de una mezcla muy compleja, en la que se desconocen todos sus componentes, y se utiliza en productos de repostería, helados, derivados lácteos, conservas vegetales o mermeladas. No se han detectado efectos nocivos en su consumo, por lo que tampoco se ha fijado una ingesta diaria admisible.

Carbonato de calcio (E170). Es un mineral blanco de origen natural que se utiliza para recubrir superficies, como agente antiapelmazante y como estabilizador en frutas enlatadas.

2.3 COMPUESTOS FENÓLICOS

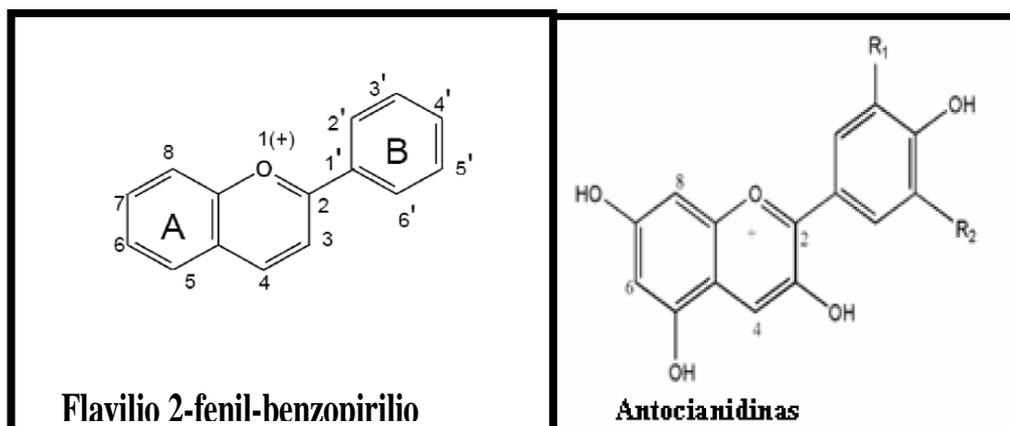
La materia viva contiene una gran cantidad de compuestos fenólicos, aunque muy difundidos y de considerable importancia, no forman más que una fracción mínima

de la sustancia orgánica del reino vegetal y animal. Pero los fenoles vegetales poseen especial interés. Un grupo de compuestos fenólicos naturales son, las antocianinas estas son pigmentos hidrosolubles muy difundidos en el reino vegetal y responsable de los vistosos colores de muchas flores, frutas y verduras. (Bawerman, 1980).

2.3.1 Las antocianinas

Las antocianinas representan un factor muy importante en la industria alimenticia debido a las restricciones sanitarias hacia el uso de colorantes sintéticos (Konga *et al.*, citado por López, Quiñones y Echeverri .2007). Adicionalmente estas sustancias poseen un valor agregado que es su capacidad antioxidante (Konga *et al.* y Jiao *et al.*, citado por López, Quiñones y Echeverri .2007); por esta razón se está creando un excelente mercado de exportación de frutas frescas con un alto contenido de antocianinas.

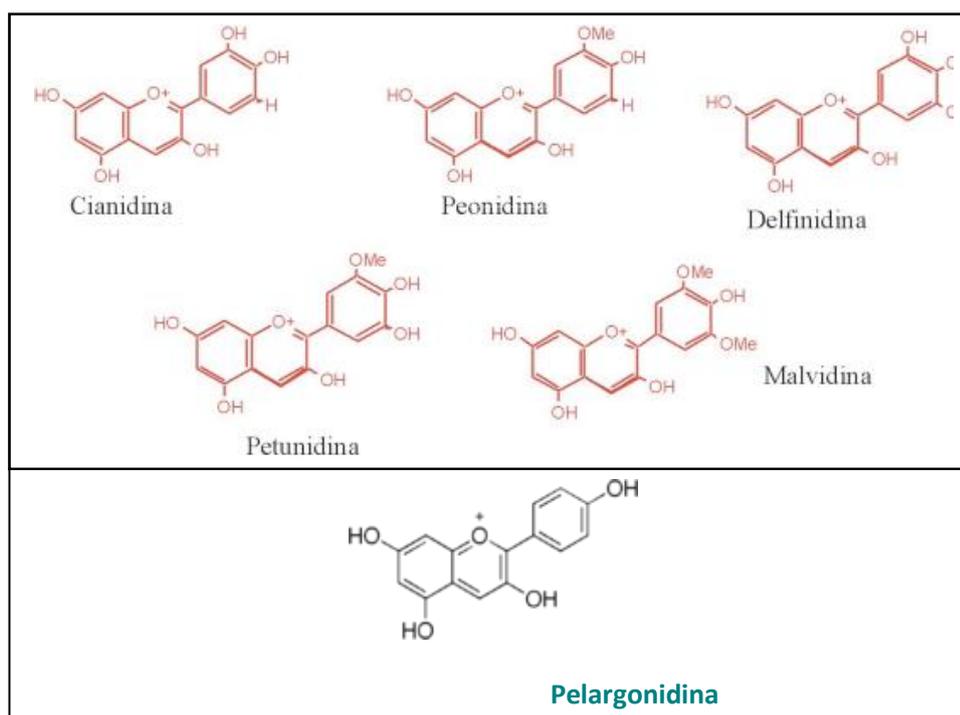
Las antocianinas representa un grupo muy amplio de compuestos fenólicos vegetales, estos son los pigmentos hidrosolubles rojos, azules y púrpuras de las flores, frutas y verduras. Estas poseen una estructura básica en común, químicamente son glicósidos de las antocianinas (Wong, citado por Poo, 2005), es decir, están constituidas por una molécula de antocianidina, que es la aglicona, a la que se une un azúcar por medio de un enlace β -glucosídico. La estructura química básica de estas agliconas es el ión *flavilio*. (Baudi, 1993), también llamado 2-fenil-benzopirilio (Wong, citado por Poo, 2005) que consta de dos grupos aromáticos: un benzopirilio (A) y un anillo fenólico (B); el flavilio normalmente funciona como un catión como se puede ver en la Figura 2.1. (Badui, 1993).



FUENTE: Wong, citado por Poo 2005

Figura. 2.1. : Estructura del flavilio y la antocianina

De todas las antocianidinas que actualmente se conocen (aproximadamente 20), las más importantes son la pelargonidina, la delphinidina, la cianidina, la petunidina, la peonidina y la malvidina como se mira en la Figura 2.2, nombres que derivan de la fuente vegetal de donde se aislaron por primera vez; la combinación de éstas con los diferentes azúcares genera aproximadamente 150 antocianinas (Badui, 1993). Según los resultados obtenidos por López, Quiñones, y Echeverri (2007), en su investigación indican claras diferencias en los contenidos de las antocianinas de mora, mortiño y tomare de árbol. Así, la mora tiene tres productos coloreados, siendo el menos polar el más abundante y cuyo espectro de RMN indica un derivado de cianidina. De otro lado, el mortiño se caracteriza por tener casi exclusivamente un producto de intenso color rojo-violáceo, probablemente un derivado de delphinidina. Por su parte el tomate de árbol muestra también tres sustancias pero en proporciones distintas a la de la mora.



FUENTE: Wong, citado por Poo 2005

Figura. 2.2. : Estructuras de las antocianidinas más importantes

2.3.1.1 Factores que afectan la estabilidad de las antocianinas

Parra (citado por Rebolledo. 2007), señala 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 metales (Brouillard, Harborne y Grayer, citado por Peguero, 2007).

Debido a la deficiencia electrónica del núcleo flavilio las antocianidinas tienden a reacciones que alteran su estructura (Harborne y Williams, citado por Peguero, 2007). 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.

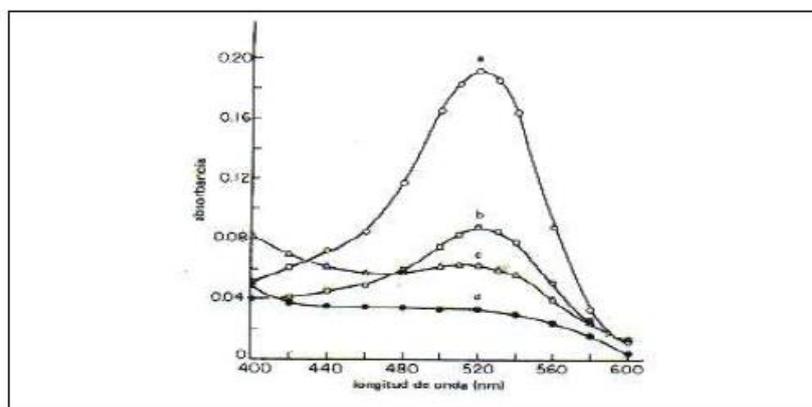
2.3.1.1.1 Temperatura

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, 1993).

Dada su alta hidrosolubilidad, estos pigmentos 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 (Badui, 1993).

La estabilidad de las antocianinas en los alimentos se ve notablemente afectada por la temperatura, como se observa en la Figura 2.3. 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, 2000).



FUENTE: Badui 1993

Figura. 2.3. : Degradación de antocianos del jugo de uva en función de la temperatura. (a: jugo no tratado; b: 99°C por 1 hr; c: 99°C por 2hr, d: jugo comercial)

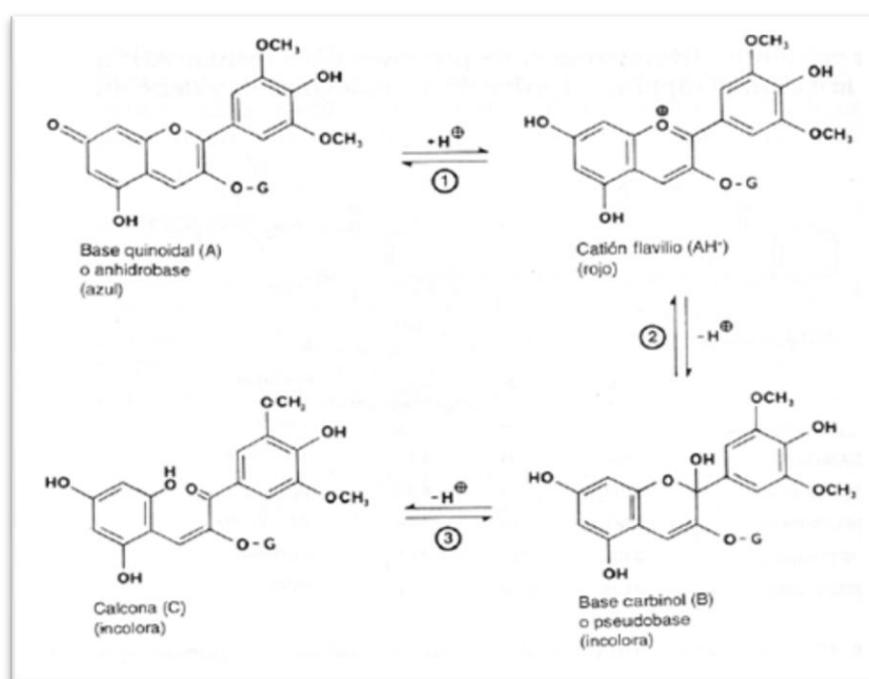
Las antocianinas también cambian de color cuando forman complejos con otros compuestos fenólicos (proantocianidinas, catequinas, taninos y flavonoides) o con algunos polisacáridos, ya que se favorece un desplazamiento de la absorción a longitudes de onda mayores (Badui, 1993).

2.3.1.1.2 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, 1993).

2.3.1.1.3 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 (Badui, 1993). Figura 2.4.



F

FUENTE: Wong, citado por Poo 2005

Figura. 2.4. : Reacciones de la transformación estructural de las antocianidinas en el intervalo de pH de 1 a 7

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. (Bawerman, 1980).

2.3.1.2 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. (Rebolledo, 2007).

2.3.1.2.1 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 (Wrolstad, citado por Rebolledo, 2007).

2.3.1.2.2 Ley de Lambert-Beer

Esta ley expresa la relación entre absorbancia de luz monocromática (de longitud de onda fija) y concentración de un cromóforo en solución:

$$\mathbf{A = \log I/I_0 = \epsilon \cdot c \cdot l}$$

La absorbancia de una solución es directamente proporcional a su concentración, a mayor número de moléculas mayor interacción de la luz con ellas; también depende de la distancia que recorre la luz por la solución a igual concentración, cuanto mayor distancia recorre la luz por la muestra más moléculas se encontrará; y por último, depende de ϵ , una constante de proporcionalidad denominada coeficiente de extinción que es específica de cada cromóforo. Como A es adimensional, las dimensiones de ϵ dependen de las de c y l. La segunda magnitud (l) se expresa siempre en cm mientras que la primera (c) se hace, siempre que sea posible, en M, con lo que las dimensiones de ϵ resultan ser $M^{-1} \cdot cm^{-1}$. Este coeficiente así expresado, en términos de unidades de concentración molar (o un submúltiplo apropiado), se denomina coeficiente de extinción molar (ϵ_M). Cuando, por desconocerse el peso molecular del soluto, la concentración de la disolución se expresa en otras unidades distintas de M, por ejemplo $g \cdot L^{-1}$, las dimensiones de ϵ resultan ser distintas, por

ejemplo $\text{g}^{-1}\cdot\text{L}\cdot\text{cm}^{-1}$, y al coeficiente así expresado se denomina coeficiente de extinción específico (ϵ_s). (Díaz, Bárcena . *et al.* 2007)

La ley de Lambert-Beer se cumple para soluciones diluidas; para valores de c altos, ϵ varía con la concentración, debido a fenómenos de dispersión de la luz, agregación de moléculas, cambios del medio, etc. (Díaz, Bárcena . *et al.* 2007)

2.3.1.2.3 Espectrofotometría

La espectrofotometría es una técnica que mide la interacción de moléculas con la radiación electromagnética. La luz que se encuentra en el rango visible y ultravioleta de los espectros electromagnéticos presenta una energía de 150- 400 kJmol^{-1} . La energía de la luz es usada para promover electrones de un estado de excitación a otro. Un espectro es obtenido cuando la absorción de luz es medida en función de una frecuencia o longitud. Moléculas con electrones deslocalizados en sistemas aromáticos a menudo absorben la luz a 150-400 nm (ultravioleta) o en la región visible de 400-800 nm . (Arenas y López, 2004)

La espectrofotometría de absorción es usualmente usada con moléculas disueltas en un solvente transparente. La absorbancia de un soluto depende linealmente de la concentración y por consiguiente la espectrofotometría de absorción es ideal para hacer mediciones cuantitativas. La longitud de absorción y la fuerza de absorbancia de una molécula no sólo depende de la naturaleza química, si no del ambiente molecular en donde se encuentre el cromóforo. La espectrofotometría de absorción es por lo tanto una excelente técnica para seguir reacciones de unión a ligando, catálisis enzimáticas y transiciones (Arenas y López, 2004)

El espectrofotómetro nos permitirá medir la absorbancia a la longitud de onda de máxima absorción para antocianinas. Además nos permitirá saber la cantidad de antocianinas presentes en las muestras a analizar.

2.4 DESCRIPCIÓN DE LAS PLANTAS EN ESTUDIO

2.4.1 Mortiño (*Vaccinium mytillus* L.)

Gonzalez, (citado por Noboa. 2010), en su trabajo de tesis indica que el mortiño se encuentra distribuido en los Andes ecuatorianos, al norte desde la provincia del Carchi hasta la provincia de Loja al sur, todo esto corroborado, con los datos de JORGENSEN & LEÓN YÁNEZ, 1999, esta especie crece en un amplio rango latitudinal desde los 2000 hasta los 4400 m de altitud.

El mortiño es considerado el “Blueberry de los Andes” por su similitud con el blueberry de Norte América, es una planta con interesante potencial en el mercado como una nueva fruta que puede cultivarse y promoverse su consumo en el mercado mundial debido a la amplia aceptación de especies muy similares. Sin embargo es posible que la producción tenga apenas acceso a nichos de mercado similares al de *V. huckleberries* de Norteamérica, puesto que sería difícil que el mortiño desplace por su limitada calidad, el amplio mercado establecido para la extensa producción de blueberry norteamericano, chileno y argentino. (MAG, citado por Pérez y Valdivieso. 2007)

Cuadro. 2.2. : Clasificación taxonómica del Mortiño

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Ericales
Familia	Ericaceae
Género	Vaccinium

FUENTE: Pérez. y Valdivieso 2007

Un grupo de investigadores de la UN en Medellín, en cooperación con la Corporación Autónoma Regional del Centro de Antioquia (Corantioquia) y la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica), estudiaron el agraz o mortiño cuya conclusión la publicaron en marzo 2009, donde manifiestan que este es uno de los frutos con mayor potencial antioxidante de los hasta ahora estudiados por el grupo. De acuerdo con esto, comparativamente el mortiño tendría más presencia de polifenoles que otros frutos como la fresa, la curuba, la mora y la gran mayoría de frutas tropicales colombianas. La presencia de antioxidantes en los alimentos retarda y previene la oxidación de otras moléculas, y constituye un factor determinante para aprovechar en otros usos farmacológicos como el tratamiento para accidentes cerebro-vasculares y enfermedades neurodegenerativas. (Noboa, 2010).

Expertos aseguran que las personas que consumen altas cantidades de polifenoles y antocianinas en los alimentos tienen un riesgo más bajo de contraer cáncer, enfermedades cardíacas y algunas otras neurológicas. Los investigadores consideran que a partir de este fruto se pueden encontrar grandes ventajas químicas y obtener mediante procesos tecnológicos productos fermentados de alto valor agregado como vinos, salsas y vinagres balsámicos. (Noboa, 2010)

- Las hojas contienen tanino, flavona, glucoquinina, arbutina e hidroquinona.
- Los frutos por su lado contienen azúcar invertido, ácidos orgánicos, mirtilina, taninos, pectina, vitamina B y C, y antocianinas. (CESA, citado por Pérez y Valdivieso. 2007).

Los campesinos utilizan este arbusto para calmar el reumatismo, fiebres y cólicos; se usan también para sanar la gripe, la borrachera, las dolencias del hígado y los riñones. Se utiliza además para tratar dolencias pulmonares y la debilidad. (CESA, citado por Pérez y Valdivieso. 2007) El aporte nutricional más significativo del género *Vaccinium* es el alto contenido de antocianinas y vitamina C. (Eck, citado por Pérez y Valdivieso. 2007).

Las antocianinas son flavoides las mismas que cumplen propiedades medicinales muy interesantes como por ejemplo tener propiedades antioxidantes. El ácido ascórbico o vitamina C contribuye a prevenir el cáncer de esófago, boca, estómago, páncreas, cuello de útero, recto y mamas.

El fruto del mortiño se usa principalmente como alimento humano en jaleas, mermeladas, vino y harina (CADME, citado por Noboa, 2010). Los frutos también se utilizan en la elaboración de postres, los mismos que se comercializan en prestigiosas pastelerías y también en la elaboración de helados, aunque el principal uso es en la tradicional colada morada en la época de difuntos a inicios de Noviembre en el Ecuador. Los frutos también se utilizan para tinturajes de ropa de lana, para lo cual se machaca los frutos y se pone a hervir durante media hora, luego se introduce la lana

o prenda que se desee tinturar y se deja hervir conjuntamente con los frutos machacados y para fijar el color se agregan gotas de limón. , se puede aprovechar el colorante presente en la fruta también para la elaboración de un tinte natural en alimentos, y el alto contenido de antocianinas y vitamina C presente en los frutos puede tener usos en la medicina. En forma de bebida se toma para curar reumatismos, fiebres, cólicos, borrachera, gripe, dolencias del hígado, debilidad y otros. El fruto machacado sirve para el pulmón y el riñón (Noboa, 2010).

2.4.2 Mora de castilla (*Rubus glaucus*)

La mora (*Rubus* spp.) es una fruta silvestre, nativa del continente Americano y según varios autores de la zona Andina (Fernández, citado por Farinango, 2010). Se encuentran a lo largo del Callejón Interandino, especialmente en las provincias de Tungurahua, Cotopaxi, Bolívar, Chimborazo, Pichincha, Imbabura y Carchi (Martínez, citado por Farinango, 2010).

La Mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth), conocida también como Mora Andina o Mora Negra, es la de mayor importancia comercial y la mas cultivada en el Ecuador, en regiones comprendidas entre 1200 a 3000 m.s.n.m (Bejarano y Martínez, citado por Farinango, 2010).

Cuadro. 2.3. : Clasificación taxonómica de la Mora de Castilla

Reino	Vegetal
Clase	Angiospermae
Subclase	Dicotyledonae
Orden	Rosae
Familia	Rosaceae

Género	Rubus. Cuenta con gran cantidad de especies entre las que se destaca Rubus Glaucus, también llamada mora de castilla y algunas que aun no se han caracterizado.
Nombre científico	<i>Rubus</i> sp.

FUENTE: Martínez, citado por Farinango 2010

La Fundación Grupo Eroski (frutos@consumer.es) menciona que el consumo de la mora es importante porque:

- Tiene un alto contenido de antocianinos y carotenoides, que son antioxidantes, los cuales neutralizan la acción de los radicales libres que son nocivos para el organismo, con lo cual se producen efectos antiinflamatorios y acción antibacteriana,
- Posee un alto contenido de vitamina C
- Contiene altas cantidades de fibra.

Agregan que la ingesta de estas sustancias potencia nuestro sistema inmunológico y contribuye a reducir el riesgo de enfermedades degenerativas, cardiovasculares e incluso del cáncer. Además en situaciones como embarazo, lactancia, tabaquismo, problemas de circulación, estrés, cáncer e enfermedades inflamatorias crónicas recomiendan el uso de mora y otras bayas silvestres que tienen un alto contenido de vitamina C. Además es un buen diurético (Grupo EROSKI, citado por Castro y Cerdas, 2005).

La Mora de Castilla tiene múltiples usos, el principal es como fruta fresca y como materia prima en la fabricación de jugos, helados, pulpas, jaleas, mermeladas, conservas, compotas, yogurt, néctares concentrados y en la actualidad como fuente de colorantes naturales. (Antía y Torres, citado por Farinango, 2010).

Es una de las frutas de consumo diario de las familias ecuatorianas, con una demanda de 2kg/semana, especialmente en la región Costa (Martínez, citado por Farinango, 2010).

Las moras son frutas de bajo valor calórico por su escaso aporte en hidratos de carbono. Sin embargo, lo que en realidad las caracteriza es la presencia de abundantes pigmentos naturales (antocianinas y carotenoides) de acción antioxidante. Las antocianinas les confieren su color característico.

2.4.3 Tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.)

El tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.), es una fruta exótica originaria de la vertiente oriental de los Andes, perteneciente al grupo de las frutas semiácidas, muy conocida por su nombre comercial “tamarillo” en el mercado mundial desde 1970 en Nueva Zelanda (MAG-IICA, citado por Jibaja, H. 2010).

El tomate de árbol es una planta de 2 a 3m de altura, que pertenece a la familia de las Solanáceas, se cultiva en Ecuador en las zonas tradicionales como Patate y Baños y prácticamente, en toda la serranía ecuatoriana. La variedad más difundida es la tradicional anaranjada. También se ha introducido últimamente el tomate “mora”, de

color morado y pulpa más rojiza, pero de palatabilidad inferior (Feicán *et al.*, 1999; MAG-IICA, 2001).

El tomate de árbol, tradicionalmente, se emplea para la elaboración de jugos, salsas, mermeladas, dulces, pulpas y concentrados congelados, helados, entre otros. Además, tienen aplicación medicinal en el tratamiento de afecciones de garganta, gripe, problemas hepáticos y control de colesterol (Bayas; León y Viteri, citado por Jibaja,H. 2010).

Cuadro. 2.4. : Clasificación taxonómica del Tomate de árbol

Reino	Vegetal
División	Fanerógamas
Subdivisión	Angiosperma
Clase	Dicotiledóneas
Subclase	Metaclamideas
Orden	Tubiflorales
Familia	Solanaceae
Género	Solanum
Especie	<i>Solanum Betaceum Cav.</i>

FUENTE: León y Viteri, citado por Jibaja 2010

Tradicionalmente, el tomate de árbol se emplea como materia prima para la elaboración de jugos, salsas, mermeladas, dulces o jaleas, helados, pulpa y concentrado congelado. Es un excelente complemento para ensaladas de frutas y vegetales, así como para platos gourmet (MAG-IICA, Bayas, Bernal y Díaz, León y Viteri, citado por Jibaja,H. 2010).

Los usos medicinales del tomate de árbol están relacionados con sus propiedades terapéuticas. Se lo utiliza en el tratamiento de: afecciones de garganta, gripe y control del colesterol, problemas hepáticos, heridas y llagas, parásitos intestinales, dolores musculares, afecciones cutáneas, diabetes, reumatismo y erisipela. Además, es de gran interés para la industria farmacéutica (León y Viteri, citado por Jibaja,H. 2010).

2.5 EMBUTIDOS

Son alimentos preparados a partir de carne picada y condimentada, introducida a presión en tripas aunque en el momento de consumo, carezcan de ellas. En los embutidos curados sus componentes interactúan con sal, nitratos y nitritos principalmente, con el fin de mejorar sus características, en especial color y vida útil. (Jhensy y Suarez, 2002)

En la elaboración de estos productos se utilizan nitritos y nitratos de sodio o de potasio que son aditivos químicos que evitan el ataque de microorganismos, su descomposición y mejoran el color del producto final. Sin embargo, un exceso de estos aditivos puede provocar toxicidad que se manifiesta como metahemoglobinemia y formación de nitrosaminas (esta última se ha asociado a riesgo cancerígeno). (Dresbach, citado por Rodas, 2005)

2.6 NITRATOS Y NITRITOS EN SALCHICHAS

Una de las prácticas cotidianas en la elaboración de embutidos cárnicos ha sido la adición de sustancias conservantes como los nitritos, que permitan aumentar la vida útil, desarrollar color y sabor característicos de estos productos, no obstante, han sido

objeto de múltiples investigaciones debido a sus implicaciones toxicológicas, pues a determinados niveles de exposición pueden producir, efectos vasomotores, antivitaminicos y de falsas alergias alimentarias, metahemoglobinemia, disminución de la fosforilación oxidativa, inhibición de enzimas microsomales y formación de nitrosaminas (compuestos cancerígenos, mutagénicos y cancerígenos).(Cassens, Vittozzi, García, FAD/WHO, citado por Vargas,2007)

Rodas (2005), sostiene que los nitritos poseen una mayor acción preservante que los nitratos; ya que estos son capaces de combinarse con los pigmentos de la carne (mioglobina o miosomo) y formar la nitrosilmioglobina.

La mioglobina igual que la hemoglobina, se puede unir al oxígeno en forma temporal y reversible. La mioglobina en la forma no oxigenada y con el hierro en su estado ferroso (Fe^{2+}), es la proteína que le proporciona el color rojo púrpura a los músculos. Bajo la exposición al aire, la mioglobina se oxigena para formar oxihemoglobina, la cual tiene un color rojo cereza. Durante una prolongada exposición al oxígeno del aire o al óxido de nitrógeno, el hierro del grupo hemo se oxida a hierro trivalente y la mioglobina se convierte en metamioglobina cuyo color es marrón carmelita. Estas reacciones se explican en el siguiente esquema. (Primo Yúfera, citado por Rodas, 2005).

potasio (o de sodio) por Kg. de peso de producto. (Codex Alimentarius, citado por Rodas, 2005).

La Ingestión Diaria Admisible (IDA) recomendada para nitratos y nitritos es de 3.7 mg de nitrato (expresado como ión) por kg de peso corporal y 0.07 mg de nitrito (expresado como ión) por kg de peso corporal, respectivamente. (World Health Organization , citado por Ruiz, *et al.*, 2008)

Para la dosificación de nitritos añadidos y residuales, el Comité de Codex Alimentarius acordó que debían mantenerse las cifras tanto para los nitritos añadidos como para los residuales, dado que facilitaban información útil a los elaboradores y consumidores. El observador de CLITRAVI informó al Comité de que, bajo el punto de vista de la inocuidad del producto y de la salud pública, debían apoyarse la dosis de 150 mg/kg para los nitritos residuales. El Comité no apoyó esta propuesta y acordó mantener las dosis de 200 y 125 mg/kg para los nitritos añadidos y residuales respectivamente en todas las normas para productos cárnicos distintas de la norma (OMS/FAO, 1990)

2.6.1 Efectos sobre la salud por el uso de nitritos y nitratos.

2.6.1.1 Formación de Metahemoglobina:

Los nitritos al entrar al torrente sanguíneo se unen con facilidad al hierro divalente (Fe^{2+}) de la molécula de hemoglobina disminuyendo su afinidad por el oxígeno al

oxidarlo a hierro trivalente (Fe^{3+}), provocando así la patología denominada Metahemoglobinemia o hipoxia sanguínea, que afecta principalmente a niños lactantes menores de 3 meses de edad. La dosis mortal de nitrito de sodio (NaNO_2) es de 2 gramos. Las concentraciones mayores de 10 ppm pueden producir metahemoglobinemia. (Dresbach, citado por Rodas, 2005)

2.6.1.2 Formación de Nitrosaminas:

En estudios recientes se ha demostrado que la nitrosamina, la cual es un compuesto químico producido por la interacción de nitritos y aminos secundarios en los alimentos, es en la actualidad una sustancia de interés y controversias considerables, debido al contenido real de esta sustancia en las comidas y embutidos. En algunos de los casos reportados, las nitrosaminas eran producidas por la interacción de aminos con nitritos y nitratos que se agregaban a estos alimentos como preservantes. (Albert, citado por Rodas, 2005)

Se descubrió que entre las características de estos compuestos nitrogenados estaba el inducir la formación de tumores, aún en pequeñas concentraciones; y que algunos pueden cruzar la barrera placentaria produciendo tumores en la siguiente generación. (Albert, citado por Rodas, 2005)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en la provincia de Pichincha, cantón Rumiñahui, sector San Fernando, hacienda El Prado. Los análisis del presente estudio fueron realizados en los laboratorios de la Carrera de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias IASA I.

3.1 MATERIALES PARA LA EXTRACCIÓN DE LOS PIGMENTOS.

3.1.1 Materia prima:

- Fruta de mortiño (*Vaccinium myrtillus* L.)
- Fruta de mora de castilla (*Rubus glaucus*)
- Mucílago interno que recubre la semilla de toma de árbol (*Solanum betaceum* Cav.), variedad “Mora”

3.1.2 Reactivos

- Etanol 90°
- Ácido cítrico a una concentración de 0,03%
- Cloruro de potasio 0,025 M
- Acetato de Sodio 0,4 M.
- Agua destilada

3.1.3 Equipo básico

- Espectrofotómetro SpectroFlex 6600.
- Baño María
- Estufa
- Refrigerador
- Pipetas
- Celdas de cuarzo de un centímetro
- Mortero
- Espátula
- Cuchillo
- Papel aluminio
- Agitador de vidrio
- Embudo
- Vasos de precipitación
- Erlenmeyer
- Agua destilada
- Probetas
- Balanza analítica
- Papel filtro whatman No.1.
- Tubos de ensayos
- Calculadora
- Computadora
- Cámara fotográfica

3.2 MÉTODO PARA LA EXTRACCIÓN DE LOS PIGMENTOS.

Los métodos convencionales empleados para la extracción de antocianinas implican el uso de solventes ácidos, Menéndez (2008) sugiere por ejemplo: HCl en Metanol, HCl en Etanol, Cloroformo con Acetona, Etanol con Acido Acético, Metanol con Acido Acético, Etanol con Acido Cítrico.

Se debe tomar en cuenta que el concentrado final será de grado alimenticio, por este motivo las soluciones como el Metanol y el cloroformo podrían provocar daños irreversibles para la salud o podrían dejar un olor residual como el caso del Acido Acético y Acetona. (Menéndez ,2008).

Para este estudio, en la extracción de los colorantes antociánicos de cada una de las frutas, se utilizo una solución de etanol al 90° de pureza con una concentración de acido cítrico del 0,03% (protocolo sugerido por Menéndez, 2008). Se realizaron pruebas previas de extracción, con diferentes cantidades de fruta (10g, 20g, 30g, 40g, 50g) a las cuales se agregó 100 ml de la solución alcohólica a cada una, a diferentes temperaturas (25°C, 50°C, 60°C, 70°C), después de la extracción, determinamos la absorbancia para determinar el mejor método de extracción de antocianinas, y por consiguientes los parámetros de trabajo.

La mejor temperatura fue a 60°C para las tres frutas mientras que en la cantidad de materia prima para la mora y tomate la mejor fue de 50g y para el mortiño fue de 10g con estas cantidades obtuvimos un buen rendimiento y una disminución en el desperdicio de la fruta.

Una vez obtenidos los parámetros procedimos a trabajar de la siguiente manera. A cada una de las frutas se las peso y posteriormente la fruta del mortiño y la de mora respectivamente se las trituraron en el mortero, mientras que la fruta del tomate de árbol se procedió a extraer el mucílago que envuelve la semilla para luego ser pesada, una vez hecho eso se aplico la solución de etanol-acido cítrico a cada una de muestras y posteriormente llevamos a baño termostático a una temperatura de 60°C durante 24 horas. Luego se procedió a realizar una filtración con papel filtro whatman No.1 para obtener los extractos de cada una de las frutas.

En el experimento base el extracto se obtuvo a partir de 100g de mora ya molida, 100g de mucílago del tomate de árbol y 20g de mortiño molido con 200ml de la solución etanol-acido cítrico respectivamente, lo que sirvió para saber la cantidad de pigmento de cada uno de las muestras ya en mayores cantidades, de esta manera al final utilizamos 1kg de mora y 1 kg del mucílago del tomate de árbol con 2lt de la solución alcohólica respectivamente y 800g de mortiño con 8lt de la solución alcohólica . Una vez filtrados y obtenidos los extractos, estas muestras se llevaron a la estufa a una temperatura de 60°C, para obtener en estado sólido a cada uno de los pigmentos.

3.3 METODOLOGÍA PARA DETERMINAR LA CONCENTRACIÓN DE LAS ANTOCIANINAS

Para la obtención de la concentración de la antocianina se utilizó el método del pH diferencial que permite la estimación alternativa del contenido de antocianinas totales (Giusti, citado por Leyva, 2009). El que se basa en determinar la absorbancia de la antocianina por medio de espectrofotometría en una longitud de onda de 400 –

700 nm. La antocianina experimenta una transformación reversible con los cambios de pH manifestado por un llamativo cambio en la absorbancia y permite una rápida y exacta medida de la antocianina total incluso en presencia de otros compuestos interferentes.

La concentración de antocianinas se calculó de la siguiente manera:

$$\text{Antocianos monoméricos (mg/L)} = \frac{A \times PM \times FD \times 1000}{(\epsilon \times l)}$$

A = Absorbancia;

PM = peso molecular

FD = Factor de dilución;

ϵ = absorptividad molar

La concentración final de antocianos (mg/L) se calcula en base al volumen de extracto y peso de muestra. Se expresa en cianidina 3-glucósido (PM: 449,2 y ϵ : 26900).

Donde:

$$A = (A_{\lambda_{\text{vis}}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH}1,0} - (A_{\lambda_{\text{vis}}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH}4,5}$$

Siendo $A_{\lambda_{\text{vis}}}$ la absorbancia máxima de la antocianina, $A_{700 \text{ nm}}$ es la lectura de la absorbancia en 700 nm.

Se utilizan dos sistemas tampón: cloruro de potasio de pH 1,0 (0,025 M) y acetato sódico de pH 4,5 (0,4 M). Se adicionaron 5ml del concentrado en 5ml de buffer pH 1, con diluciones para los concentrados de mora y mortiño de 0,05 y para el concentrado de tomate de 0,1. Luego se hizo un barrido espectroscópico en el Espectrofotómetro desde 400 hasta 700 nm. Así mismo, se realizó este procedimiento para la muestra con el buffer de pH. 4,5.

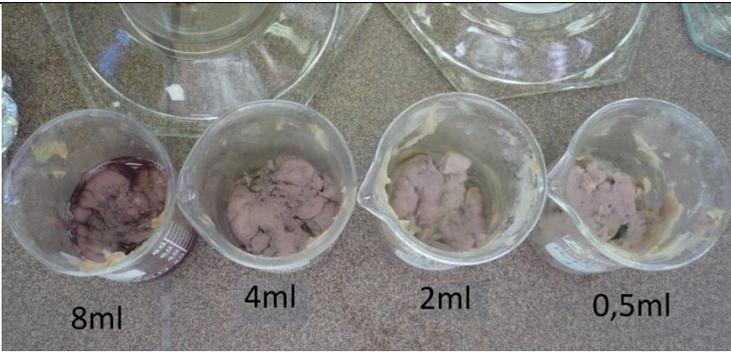
Se debe tener en cuenta que al realizar la lectura en el espectrofotómetro en el rango de 400 nm – 700 nm se debe obtener una absorbancia menor a 0,8 UA para así cumplir con la Ley de Beer.

Luego se tomó el valor de $A_{\lambda_{vismax}}$ para la muestra a los dos pH's y el valor de $A_{\lambda_{700nm}}$. Para los cálculos se tomó en consideración que la antocianina mayoritaria es cianidina-3-glucósido (Van Buren, citado por Menéndez ,2008).

3.4 DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD DE PIGMENTO A APLICAR EN LA SALCHICHA

Para saber la cantidad de cada colorante a utilizar en las salchichas se realizó pruebas en las cuales, tomamos 4g de cada uno de los colorantes y las diluimos en 100ml agua. Luego tomamos diferentes cantidades de solución (0,5ml, 2ml, 4ml, 8ml) y colocamos sobre 25g de masa de salchicha por alícuota respectivamente, de esta manera determinamos la cantidad de antocianinas a utilizarse, con una buena adición y fuerza de color en la masa. Los resultados se ven a continuación en el siguiente cuadro.

Cuadro. 3.1. : Resultado de solución pigmentante para utilizar en salchichas

Muestras de mortiño	Mejor resultado
 <p>8ml 4ml 2ml 0,5ml</p>	4ml
Muestra de Tomate	Mejor resultado
 <p>8ml 4ml 2ml 0,5ml</p>	4ml
Muestra de mora	Mejor resultado
 <p>8ml 4ml 2ml 0,5ml</p>	2ml

FUENTE: Cano 2011

En base a estos resultados pudimos determinar la cantidad de cada uno de los colorantes naturales para utilizar en la formula de las salchichas.

3.5 FORMULACIÓN DE SALCHICHAS

3.5.1 Materiales

3.5.1.1 Materia prima

- Carne de res
- Carne de cerdo
- Sal
- Azúcar
- Saborizante
- Lactato de sodio
- Eritorbato de sodio
- Tripolifosfato
- Proteína de soya
- Hielo
- Colorantes naturales
- Nitrito de sodio
- Tripa sintética de salchicha

3.5.1.2 Equipo básico:

- Picadora de carne
- Molino de carne
- Cutter
- Embutidora

- Ollas
- Termómetro
- Cocina
- Cámara fotográfica

3.5.2 Métodos

3.5.2.1 Método para la elaboración de salchichas

Se formularon 10 muestras de salchichas para valorar la cantidad de extracto coloreado calculado en la etapa anterior de extracción, con lo que se estableció la cantidad a adicionar cuantitativamente a las mezclas bases. En base a los resultados de nivel óptimo de extracción obtenida se procedió a establecer la cantidad según se reporta en el cuadro 4.2.

Para el análisis del color y su estabilidad de las salchichas en base de la pigmentación con los extractos de mora, mortiño y tomate de árbol se uso un diseño completamente al azar en análisis grupal donde se evaluaron nueve formulaciones con tres repeticiones de cada uno, para los niveles de sustitución de 75, 50 y 100% de nitrito por los pigmentos vegetales ya indicados (Cuadro 3.3. y 3.4), con las cuales se procedió a evaluar el color en base a una escala hedónica de puntuaciones de 1 a 5 de acuerdo a la estabilidad del color del producto, comparando con una muestra testigo. (Cuadro 3.2). La estabilidad de los colorantes en cada tratamiento fue

valorada durante su proceso de almacenamiento a los tiempos de uno, quince, veinte y ocho días.

Cuadro. 3.2. Calificación para el color de las salchichas

ESCALA DE COLORACIÓN	
1	No gusta
2	Gusta muy poco
3	Neutro
4	Gusta
5	Gusta mucho

Cuadro. 3.3. Tratamientos

GRUPOS	NÚMERO DE TRATAMIENTOS	ORIGEN DEL COLORANTE	NIVEL DE SUSTITUCIÓN
G1	T1	C1	N1
G1	T2	C1	N2
G1	T3	C1	N3
G2	T4	C2	N1
G2	T5	C2	N2
G2	T6	C2	N3
G3	T7	C3	N1
G3	T8	C3	N2
G3	T9	C3	N3
G4	T10	TESTIGO	Sin sustitución

FUENTE: Cano 2011

T = Cada uno de los tratamientos

C1= Colorante de Mora

C2 = Colorante de Mortiño

C3 = Colorante de Tomate de árbol

N1 = Nivel de sustitución al 75%

N2 = Nivel de sustitución al 50%

N3 = Nivel de sustitución al 100%

R = Repeticiones

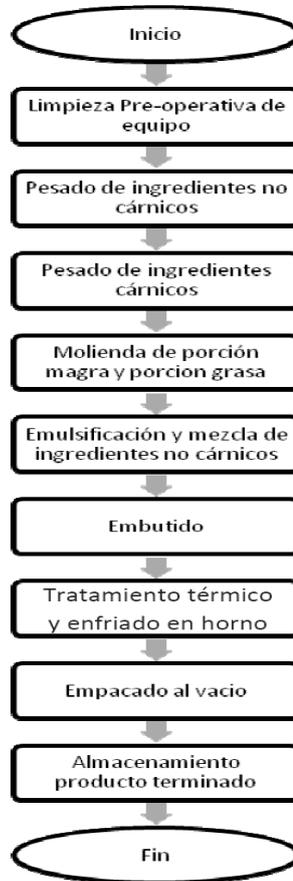
Cuadro. 3.4. :Distribución de los tratamientos según el diseño completamente al azar en análisis grupal

	G1	MORA			G2	MORTIÑO	
R1	T2 C1N2	T1 C1N1	T3 C1N3		R1	T4 C2N1	T5 C2N2
R2	T1 C1N1	T3 C1N3	T2 C1N2		R2	T6 C2N3	T4 C2N1
R3	T3 C1N3	T2 C1N2	T1 C1N1		R3	T5 C2N2	T6 C2N3
	G3	TOMATE			G4	TESTIGO	
R1	T7 C3N1	T9 C3N3	T8 C3N2		R1	T10	
R2	T9 C3N3	T8 C3N2	T7 C3N1		R2	T10	
R3	T7 C3N1	T9C3N3	T8 C3N2		R3	T10	

Las nueve formulaciones más el testigo, fueron mantenidas en condiciones de almacenamiento comercial entre 5 y 8 grados centígrados en refrigeración y empaquetadas al vacío en unidades experimentales de un kilogramo aproximadamente (15 a 20 salchichas de ½ pulgada).El experimento generó nueve tratamientos más un tratamiento testigo sin la adición de ningún colorante natural

La formulación base para la elaboración de las salchichas fue tomada de la fuente de agroindustria alimentaria del Zamorano. El proceso general se ajustó para la elaboración de salchichas se describe en el siguiente diagrama de flujo.

Diagrama de flujo para la elaboración de la salchicha



Fuente carrera de agroindustria alimentaria del Zamorano, Honduras

3.5.2.2 Procedimiento tecnológico para elaboración de salchichas

- Picamos la carne y la grasa de cerdo por separado, luego llevamos por separado al molino.
- Colocamos la carne vacuna picada en la maquina cutter, agregamos la mitad del hielo, la sal, el condimento, el azúcar, el colorante.
- Una vez absorbido el hielo, agregamos poco a poco la gordura de cerdo colocando, además la dosis de emulsionante para embutidos cocidos.

- Una vez que se ha incorporado la grasa, agregamos la otra parte del hielo.
- Cuando se ha emulsionado la pasta agregamos el aglutinante de una sola vez.
- La pasta se retiro de la cutter una vez que la misma sea homogénea y bien ligada.
- En la última etapa, luego de incorporar el aglutinante, se deben dar pocas vueltas al cutter.
- Una vez embutida la masa llevamos a una olla de cocimiento, donde estarán en agua caliente a 75°C durante 10 a 15 minutos.
- Una vez cocidas las salchichas fueron transferidas de inmediato al agua fría (agua corriente aproximadamente 10 minutos).
- Luego dejamos escurrir, una vez escurridas se las empaco y se las lleva a refrigeración.

Una vez establecida las formulaciones, se evaluó la estabilidad de las mismas utilizando criterios organolépticos principalmente el color durante el tiempo de almacenamiento. Además se realizaron al día 1 y al día 28 para cada tratamiento análisis microbiológicos, como: recuento total de bacterias, recuento de coliformes totales, *Escherichia coli* (Recuento), *Staphilococco aureus* (Recuento) y *Salmonella* spp (Identificación/25g). (Ver cuadros 4,11 y 4,12). Con los tratamientos más estables fueron presentados a un panel de diez catadores para su evolución organoléptica final.

Finalmente se determino los costos de producción de los tratamientos en estudio.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 LECTURAS DE LA ABSORBANCIA DE LAS ANTOCIANINAS

Por medio de los espectros se establece que la antocianina que se encuentra en mayor concentración en las muestras extraídas es la cianidina debido a que los picos se encontraban en las graficas entre 400nm y 520 nm de longitud de onda.

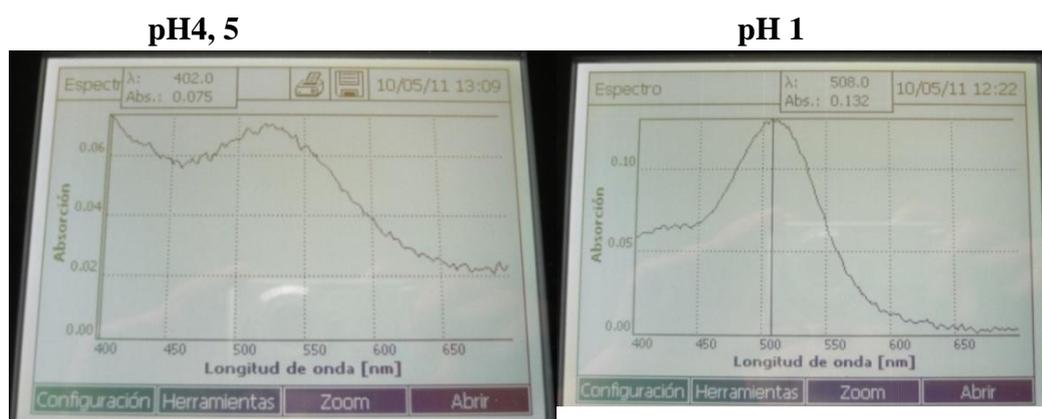


Figura. 4.1. : Espectros de absorción del tomate a pH4, 5 y pH1



FUENTE: Cano 2011

Figura. 4.2. : Espectros de absorción de la mora a pH4, 5 y pH1

En base a estos resultados podemos ver que de las tres frutas en estudio el tomate de árbol presenta mayor contenido de antocianinas con 0,31059 mg/L.

4.3 DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD DE PIGMENTO A UTILIZAR EN LA FORMULACIÓN DE SALCHICHAS.

Con las pruebas que se realizaron obtuvimos que 4ml de solución del colorante para el tomate y mortiño eran las cantidades adecuadas mientras que para la mora la mejor fue 2ml estas cantidades estaban en relación a los 25g de masa para salchicha que se uso como prueba previa. En base a estos resultados se pudo calcular la cantidad de pigmento a utilizar en 1kg de producto y las cantidades se pueden ver en el siguiente cuadro.

Cuadro. 4.2. : Cantidades de pigmento natural a utilizar en un 1kg de producto

MORA	MORTIÑO	TOMATE
3,2g	6,4g	6,4g

FUENTE: Cano 2011

Con las cantidades del extracto ya obtenidas se procedió a la formulación de las salchichas y las respectivas sustituciones según se ve en el cuadro 4.3.

Cuadro. 4.3. : Cantidades de sustitución del pigmento y del nitrito de sodio para 1kg de producto

Numero de tratamientos	Origen del colorante	Nivel de sustitución	Cantidad de sustitución del pigmento para 1kg	Cantidad de nitrito de sodio para 1kg
T1	MORA	75%	0,8g	0,375g
T2	MORA	50%	1,6g	0,75g
T3	MORA	100%	3,2g	-----
T4	MORTIÑO	75%	1,6g	0,375g
T5	MORTIÑO	50%	3,2g	0,75g
T6	MORTIÑO	100%	6,4g	-----
T7	TOMATE	75%	1,6g	0,375g
T8	TOMATE	50%	3,2g	0,75g
T9	TOMATE	100%	6,4g	-----
T10	TESTIGO	Sin sustitución	-----	1,5g

FUENTE: Cano 2011

4.4 ANÁLISIS DEL COLOR DE LAS SALCHICHAS

Al establecer el análisis de variancia sobre el color de la salchicha en base de la pigmentación con mora, mortiño y tomate a tres niveles se encontró diferencias estadísticas para tratamientos en cada una de las evaluaciones establecidas al 1,15 y 28 días, al mismo nivel se encontró diferencias significativas entre los grupos en estudio y dentro de los niveles de cada grupo así como en las diferentes comparaciones ortogonales (cuadro 4.4.)

Los promedios generales de la coloración de la salchicha fueron 2,68, 2,83 y 2,93 en base de la escala arbitraria establecida, con coeficientes de variación 11,28, 7,89 y 9,34 % respectivamente.

Cuadro. 4.4. Análisis de variancia del color de las salchichas en evaluaciones establecidas a los 1, 15 y 28 días en base de mora, mortiño y tomate de árbol

Fuentes de Variación	GL	Color de las salchichas		
		1 día	15días	28días
Total	29			
Tratamientos	(9)	2,66**	4,63**	8,21**
Entre grupos	(3)	5,75**	9,61**	16,46**
G4vsG1G2G3	1	9,08**	9,26**	14,24**
G2vsG1G3	1	5,04**	11,57**	16,12**
G1vsG3	1	3,13**	8,00**	19,01**
DG1(mora)	2	0,69**	3,03**	7,44**
DG2 (mortiño)	2	0,78**	2,03**	4,36**
DG3(tomate)	2	1,86**	1,36**	0,44**
Error	20	0,09	0,05	0,08
X(escala)		2,68	2,83	2,93
CV(%)		11,28	7,89	9,34

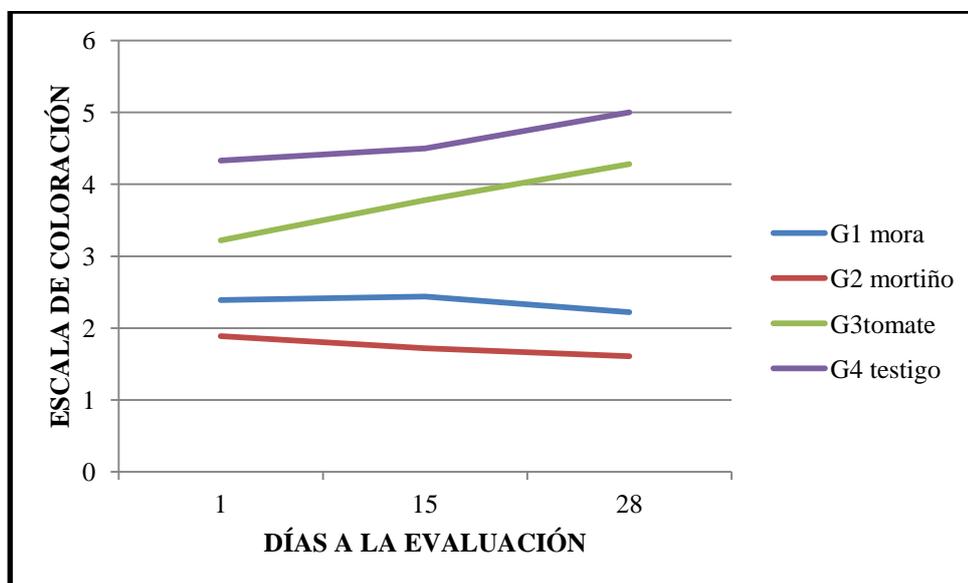
FUENTE: Cano 2011

Al analizar los grupos en estudio se determinó que las coloraciones obtenidas de las especies vegetales no alcanzan lo conseguido mediante el testigo en el cual se utilizó el nitrito. Dentro de las especies vegetales el que más sobresalió fue el del tomate de árbol pues presentó valores intermedios en color. (Cuadro 4.5).

Cuadro. 4.5. Efecto de la pigmentación con tres especies vegetales (mora, mortiño y tomate de árbol) sobre la coloración en salchichas

Grupos	Color de las salchichas		
	1 día	15días	28días
G1 mora	2,39 c	2,44 b	2,22 b
G2 mortiño	1,89 c	1,72 b	1,61 b
G3tomate	3,22 b	3,78 a	4,28 a
G4 testigo	4,33 a	4,50 a	5,00 a

Letras distintas indican diferencias significativas Duncan ($p < 0,05$)



FUENTE: Cano 2011

Figura. 4.4. Efecto de la pigmentación con tres especies vegetales (mora, mortiño y tomate de árbol) sobre la coloración en salchichas

Al analizar todos los tratamientos, el testigo manifestó la mejor coloración sin embargo en las evaluaciones al 1 y 15 días, el T8 C3N2 que corresponde al colorante de tomate de árbol con el 50% de sustitución, presentó una coloración de salchichas más baja pero que no se diferencia del testigo. La coloración de la salchicha en base de los pigmentos de mora y mortiño no son adecuados ya que presentan un color muy desagradable nada parecido al color característico y que es aceptado por los consumidores. (Cuadro 4.6).

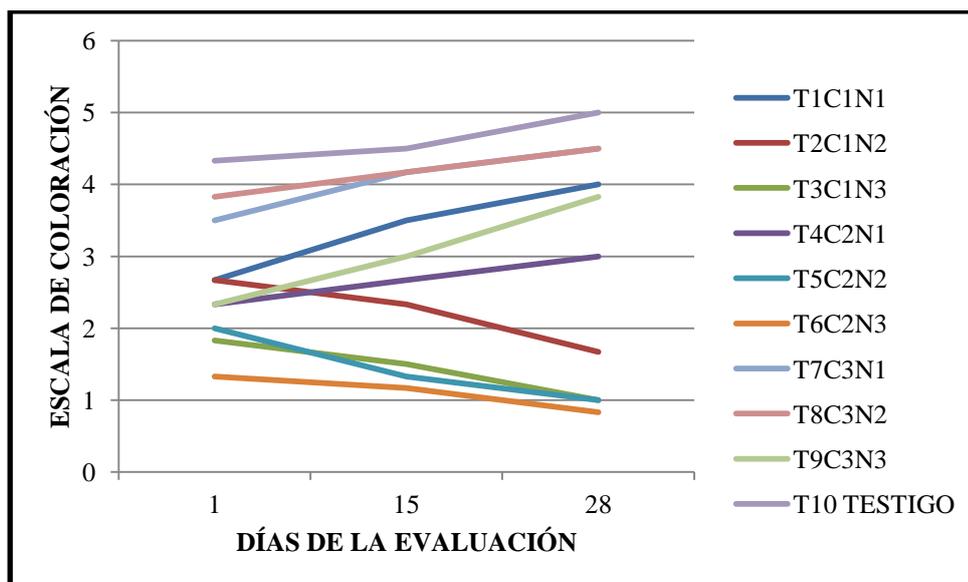
Al comparar la coloración de las salchichas en base de los pigmentos de mora y mortiño se puede observar que los tratamientos más eficientes fueron, el T1 C1N1 que corresponde al color de mora con el 75% de sustitución y T4 C2N1 que corresponde al color de mortiño con el 75% de sustitución respectivamente, en los cuales el color de la salchicha fueron los más aceptables. En el caso de los tratamientos con pigmento de tomate de árbol la coloración de las salchichas se asemeja bastante al color de las salchichas comerciales, haciendo una comparación dentro de este grupo T7 C3N1 que corresponde al 75 % de sustitución y T8 C3N2 que corresponde al 50% de sustitución, son los mejores tratamientos ya que presentan una coloración muy aceptable y similar a la del testigo, en cambio a T9 C3N3 que corresponde al 100% de sustitución la coloración en salchichas es un poco más bajo. (Cuadro 4.6).

Cuadro. 4.6. Efectos conjunto de la coloración de las tres especies (mora, mortiño y tomate de árbol) a tres niveles sobre la coloración en salchichas

	Color de las salchichas		
	1 día	15días	28días
T1 C1N1	2,67 c	3,50 b	4,00 c
T2 C1N2	2,67 c	2,33 d	1,67 e
T3 C1N3	1,83 de	1,50 e	1,00 f
T4 C2N1	2,33 cd	2,67 cd	3,00 d
T5 C2N2	2,00 d	1,33 e	1,00 f
T6 C2N3	1,33 e	1,17 e	0,83 f
T7 C3N1	3,50 b	4,17 a	4,50 b
T8 C3N2	3,83 ab	4,17 a	4,50 b
T9 C3N3	2,33 cd	3,00 c	3,83 c
T10 TESTIGO	4,33a	4,50 a	5,00 a

FUENTE: Cano 2011

Letras distintas indican diferencias significativas Duncan ($p \leq 0,05$)



FUENTE: Cano 2011

Figura. 4.5. Efectos conjunto de la coloración de las tres especies (mora, mortiño y tomate de árbol) a tres niveles sobre la coloración en salchichas

4.5 REGRESIONES

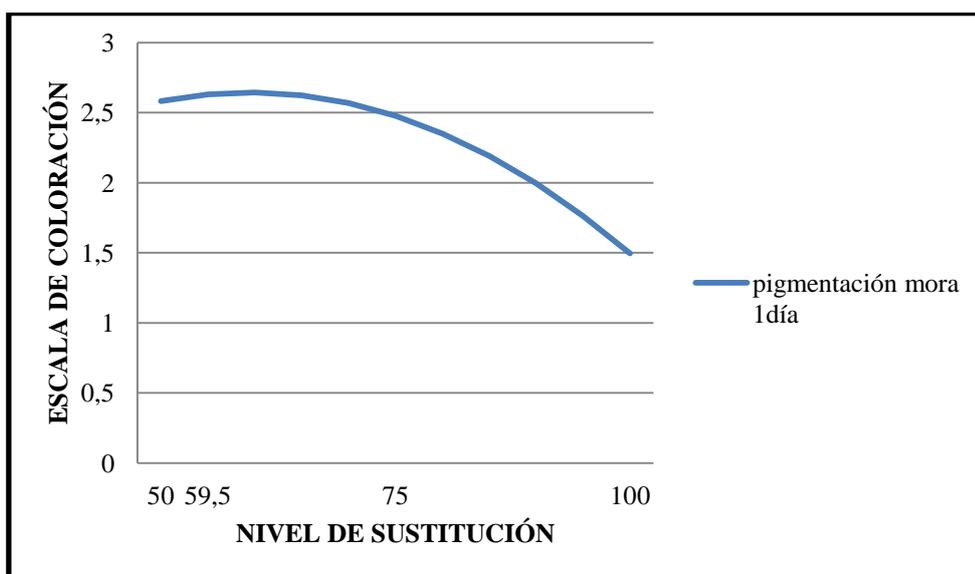
Se realizaron regresiones lineales pero las que mejores se ajustaron fueron las regresiones cuadráticas.

En la evaluación al día uno se puede observar que existe un incremento de color que llega hasta el 59,5% de sustitución y a partir de este comienza a darse un decremento de la pigmentación correspondiente a mora ver figura 4.6. En el caso de la pigmentación de mora evaluada a los 15 días, el color tiene un incremento óptimo de 72,66% de sustitución y a partir de este comienza a decrecer ver figura 4.7. El color de mora evaluada a los 28 días, presenta un incremento hasta 72,87% de sustitución a partir de este comienza el color a decrecer. (Figura 4.8)

Cuadro. 4.7. Ecuación de la regresión cuadrática y coeficiente de determinación para el color de mora en las evaluaciones 1, 15 y 28 días

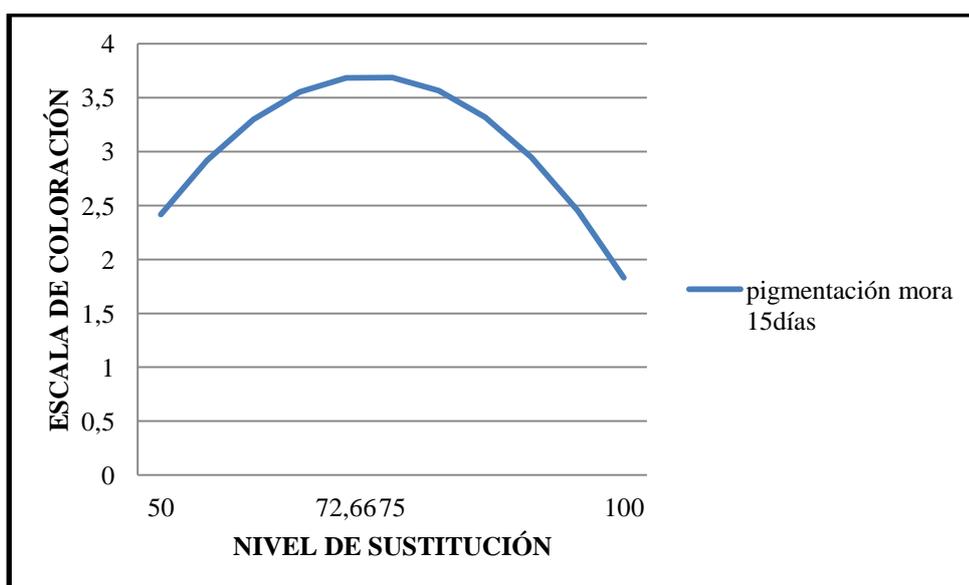
Mora	1 día	15 días	28 días
	$Y = 0,1667 + 0,0833x - 0,007x^2$ $R^2 = 0,7353$	$Y = -9,5000 + 0,3633x - 0,0025x^2$ $R^2 = 0,9732$	$Y = -19,0000 + 0,6267x - 0,0043x^2$ $R^2 = 0,9571$

FUENTE: Cano 2011



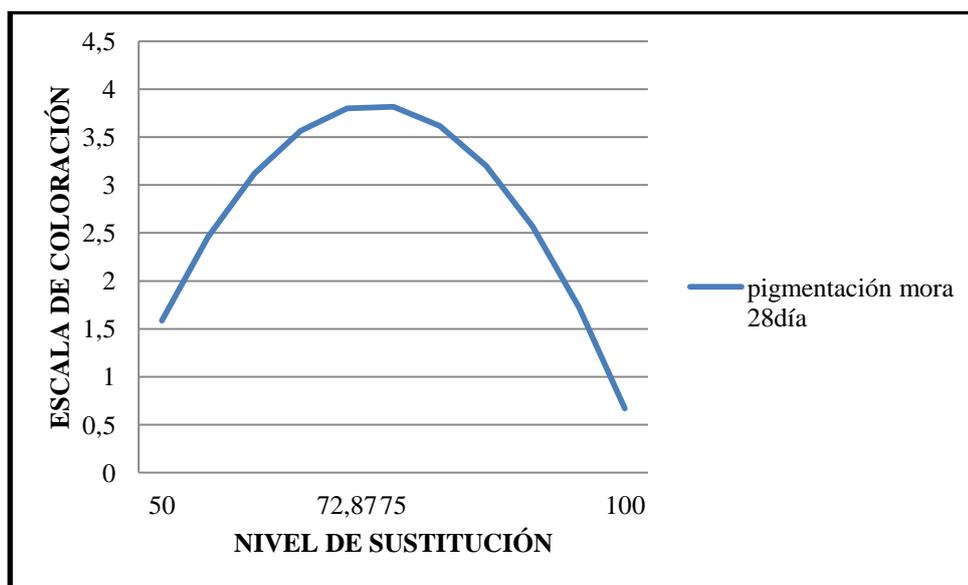
FUENTE: Cano 2011

Figura. 4.6. : Óptimo nivel de sustitución del pigmento de mora al día 1



FUENTE: Cano 2011

Figura. 4.7. : Óptimo nivel de sustitución del pigmento de mora a los 15 días



FUENTE: Cano 2011

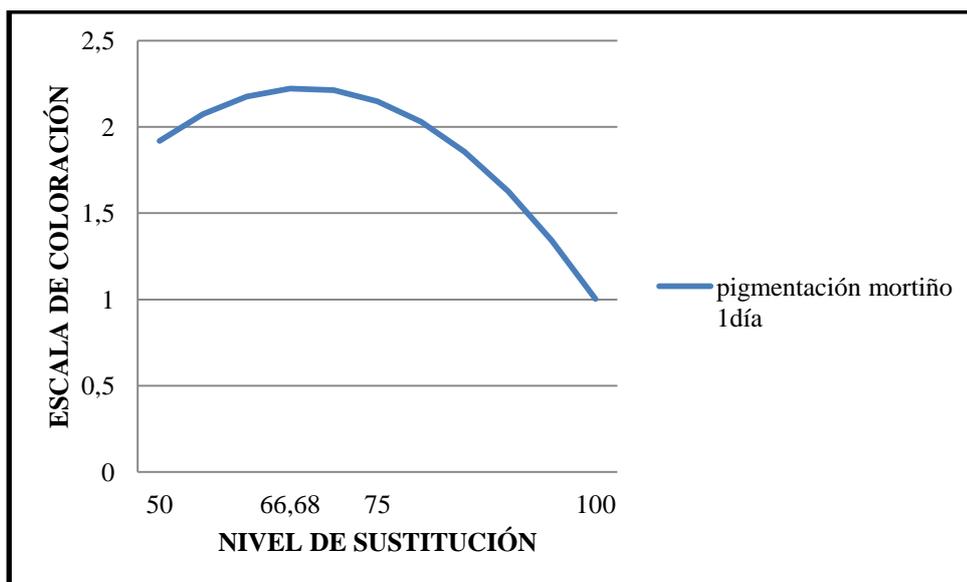
Figura. 4.8. : Óptimo nivel de sustitución del pigmento de mora a los 28 días

En la evaluación al día, uno se puede observar que existe un incremento de color que llega hasta el 66,68 % de sustitución y a partir de este comienza a darse un decremento de la pigmentación correspondiente a mortiño ver figura 4.9. En el caso de la pigmentación de mortiño evaluada a los 15 días, el color tiene un incremento óptimo de 73,19 % de sustitución y a partir de este comienza a decrecer ver figura 4.10. El color del mortiño evaluada a los 28 días, presenta un incremento hasta 75,25% de sustitución a partir de este comienza el color a decrecer. (Figura 4.11)

Cuadro. 4.8. Ecuación de la regresión cuadrática y coeficiente de determinación para el color de mortiño en las evaluaciones 1, 15 y 28 días

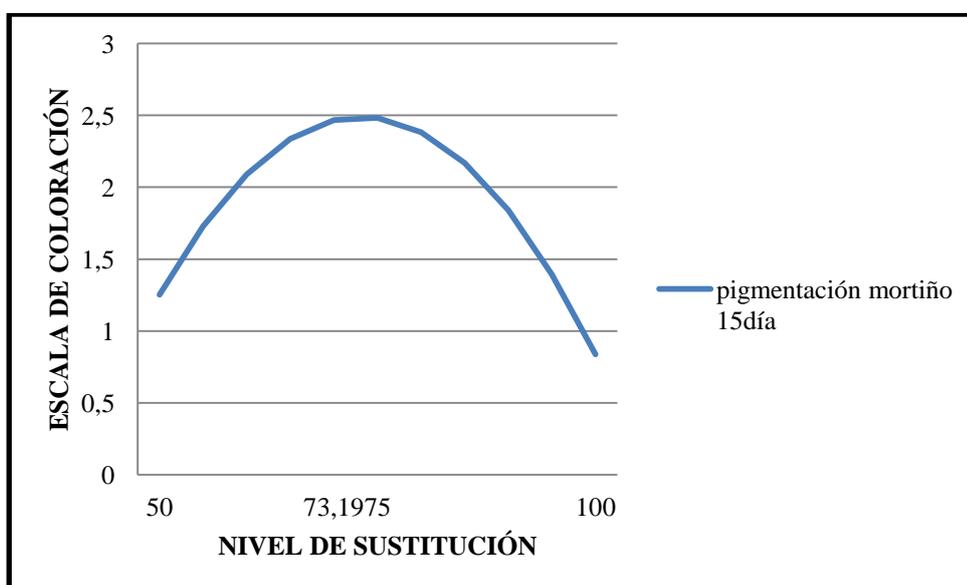
Mortiño	1 día	15 días	28 días
	$Y = -2,6667 + 0,1467x - 0,0011x^2$ $R^2 = 0,8235$	$Y = -9,8333 + 0,3367x - 0,0023x^2$ $R^2 = 0,8902$	$Y = -15,5000 + 0,4967x - 0,0033x^2$ $R^2 = 0,9290$

FUENTE: Cano 2011



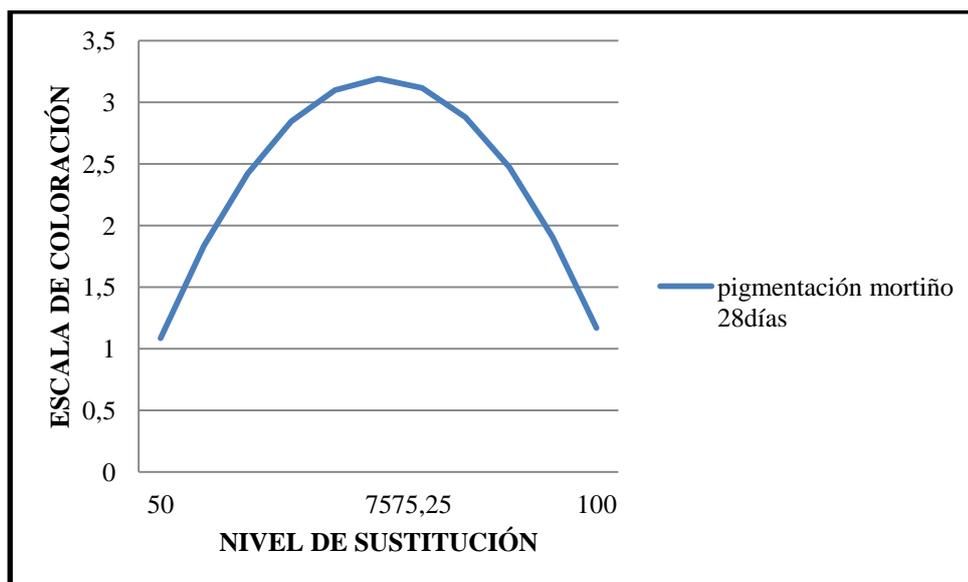
FUENTE: Cano 2011

Figura. 4.9. : Óptimo nivel de sustitución del pigmento del mortíño al día 1



FUENTE: Cano 2011

Figura. 4.10. : Óptimo nivel de sustitución del pigmento del mortíño a los 15 días



FUENTE: Cano 2011

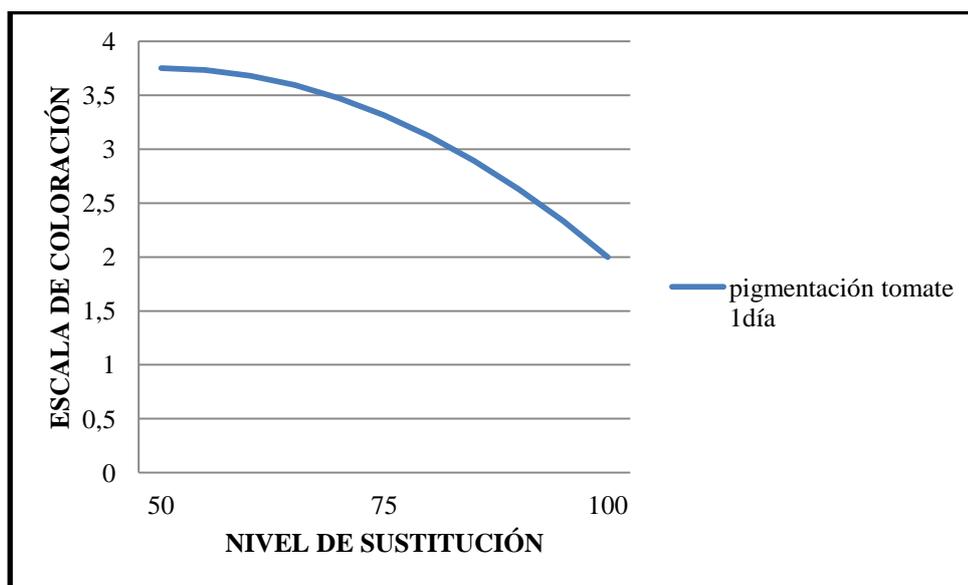
Figura. 4.11. : Óptimo nivel de sustitución del pigmento del mortño a los 28 días

En la evaluación al día uno, se puede observar que existe un incremento de color que llega hasta el 50 % de sustitución y a partir de este comienza a darse un decremento de la pigmentación correspondiente a tomate de árbol ver figura 4.12. En el caso de la pigmentación del tomate de árbol evaluada a los 15 días, el color tiene un incremento óptimo de 64,83 % de sustitución y a partir de este comienza a decrecer ver figura 4.13. El color del tomate de árbol evaluada a los 28 días, presenta un incremento hasta 66,7% de sustitución a partir de este comienza el color a decrecer. (Figura 4.14.)

Cuadro. 4.9. Ecuación de la regresión cuadrática y coeficiente de determinación para el color de tomate de árbol en las evaluaciones 1, 15 y 28 días

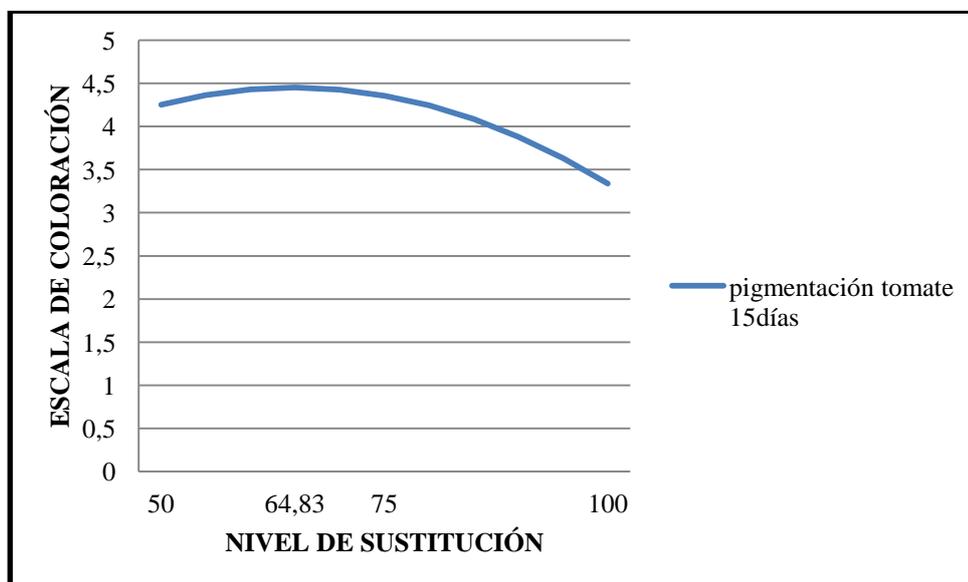
Tomate	1 día	15 días	28 días
	$Y = 2,0000 + 0,0700x - 0,0007x^2$ $R^2 = 0,8171$	$Y = 0,6667 + 0,1167x - 0,0009x^2$ $R^2 = 0,8909$	$Y = 2,5000 + 0,0667x - 0,0005x^2$ $R^2 = 0,8421$

FUENTE: Cano 2011



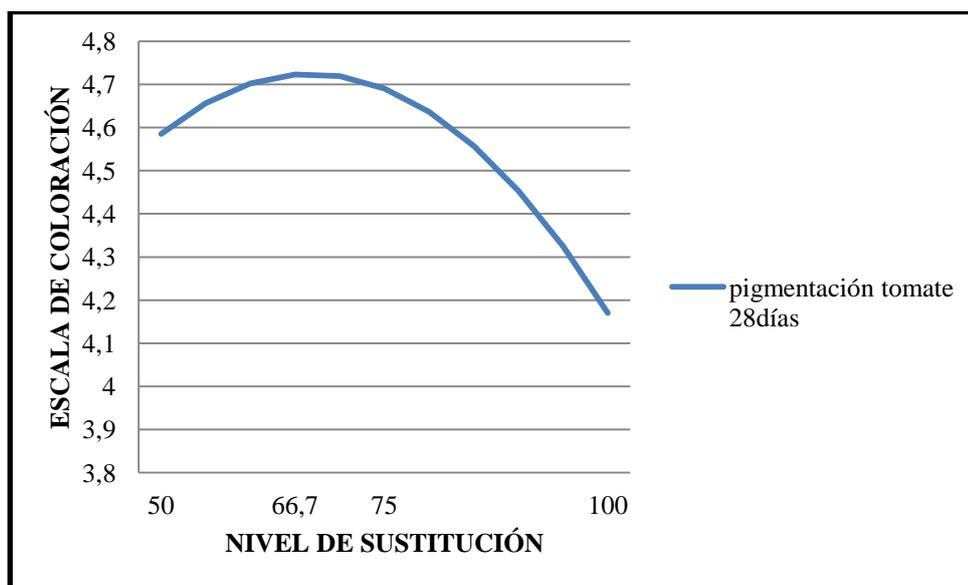
FUENTE: Cano 2011

Figura. 4.12. : Óptimo nivel de sustitución del pigmento del tomate de árbol al día 1



FUENTE: Cano 2011

Figura. 4.13. Óptimo nivel de sustitución del pigmento del tomate de árbol a los 15 días



FUENTE: Cano 2011

Figura. 4.14. : Óptimo nivel de sustitución del pigmento del tomate de árbol a los 28 días

Se puede evidenciar en la figura 4.15. que T8 C3N2 que corresponde al color de tomate de árbol con 50% de sustitución, T7 C3N1 que corresponde al color de tomate de árbol con 75% de sustitución, T1 C1N1 que corresponde al color de mora con el 75% de sustitución, T9 C3N3 que corresponde al color de tomate de árbol con 100% de sustitución, y T4 C2N1 que corresponde al color de mortiño con 75% de sustitución, son los tratamientos que presentan una pigmentación muy similar y aceptable a la del testigo T10 y demuestra que los pigmentos, de las tres frutas a pesar que poseen antocianinas estas reaccionan de diferente manera. (Figura 4.15)

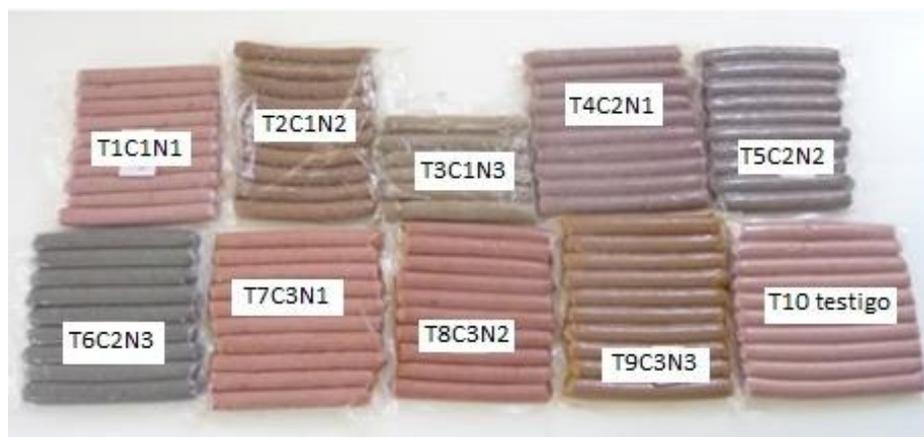
Al comparar una muestra de salchicha comercial, la cual utilizó como responsable del color al nitrito, frente a las salchichas formuladas con diferentes niveles de sustitución de las tres frutas se puede determinar que en los tratamientos cuyos

niveles de sustitución fueron del 100%, la coloración que presentaban eran muy fuertes y desagradables, a excepción del T9 C3N3 que corresponde al colorante de tomate de árbol el color de este tratamiento fue aceptada.

Además los tratamientos cuyo nivel de sustitución fueron del 50% la coloración que presentaron, fueron menos fuertes pero aun no se asemejaban al color comercial de las salchichas a excepción del T8 C3N2 que corresponde al colorante de tomate de árbol el cual si fue admisible y muy similar al color del testigo, por otro lado los niveles de sustitución al 75%, la coloración que presentaron fue la más atractiva en los grupos de mora, mortiño y tomate de árbol. Esto demuestra que el nitrito cumple todavía en este último nivel de sustitución un papel importante en la coloración. (Figura 4.15)

En el caso del tomate de árbol al hacer una sustitución en T9 C3N3 del 100%, donde la masa de salchicha contenía 6,4 g de pigmento y un cero de nitrito, el color no es muy característico pero es aceptable, en cambio el T8 C3N2 con 3,2 g de pigmento y 0,75 g de nitrito y T7 C3N1 con 1,6 g de pigmento y 0,375 g de nitrito, el color que presentan es muy bueno y similar al del testigo, esto se debe a que al disminuir la cantidad del pigmento, el nitrito contribuye a que haya un color más estable.

Esto podría deberse a que el tomate de árbol presentó la concentración más alta de antocianinas y al mezclarle en la masa de la salchicha, la estabilidad del colorante en función del tiempo de almacenamiento fue muy persistente ya que los tratamientos presentaron un color muy aceptable. Sospechándose que el tipo de antocianina presente en el tomate de árbol es de mejor calidad pigmentante. (Figura 4.15)



FUENTE: Cano 2011

Figura. 4.15. Presentación de los tratamientos realizados

En el caso de los tratamientos de mortifino en T5 C2N2 con 50% de sustitución y T6 C2N3 con 100% de sustitución, el color no fue característico aunque si fuerte tendiendo a un color púrpura a excepción del T4 C2N1 con 75% de sustitución, que si fue medianamente aceptado aunque pudo deberse a la influencia del nitrito en el color. (Figura 4.15)

4.6 RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS

Todos los tratamientos valorados microbiológicamente, presentan una aceptación en cuanto a recuento total de bacterias ya que están dentro de los parámetros dados por las normas para salchichas. En cambio para recuento de coliformes totales y *Escherichia coli* no hay una aceptación ya que están fuera de los parámetros esto se puede deber a que no hubo un control minucioso en el procesamiento de la materia prima.

Cuadro. 4.10. Parámetros microbiológicos para productos cárnicos cocidos

PARÁMETROS	UNIDAD	NORMA INEN 1338:2010	MÉTODO
RECUENTO TOTAL DE BACTERIAS	ufc/g	5,0x10 ⁵	AOAC 997,02
RECUENTO DE COLIFORMES TOTALES	ufc/g	-----	AOAC 991,14
<i>Escherichia coli</i> (Recuento)	ufc/g	< 3	AOAC 991,14
<i>Staphilococco aureus</i> (Recuento)	ufc/g	1,0x10 ³	AOAC 2003,11
<i>Salmonella spp</i> (Identificación/25g)		ausencia	NTE INEN 1529-15:96

FUENTE: Cano 2011

Cuadro. 4.11. Resultado de los análisis microbiológicos tomados al día 1

PARAMETROS	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10
RECUENTO TOTAL DE BACTERIAS	1,7X10 ⁴	SD	1,9X10 ⁴	5,6X10 ³	4,2X10 ²	2,7X10 ⁴	1,9X10 ⁵	2,2X10 ³	4,8X10 ⁴	1,3X10 ³
RECUENTO DE COLIFORMES TOTALES	<10	SD	80	20	30	1,5X10 ²	10	30	40	1,6X10 ²
<i>Escherichia coli</i> (Recuento)	<10	SD	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
<i>Staphilococco aureus</i> (Recuento)	-----		-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
<i>Salmonella spp</i> (Identificación/25g)	-----		-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

FUENTE: Cano 2011

SD = sin datos

Cuadro. 4.12. Resultado de los análisis microbiológicos tomados al día 28

PARAMETROS	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10
RECuento TOTAL DE BACTERIAS	3,9X10 ⁵	1,6X10 ⁷	2.2X10 ⁷	4,5X10 ⁴	1,2X10 ⁵	5X10 ⁵	3,2X10 ⁵	7,1X10 ⁴	3,6X10 ⁶	1X10 ⁵
RECuento DE COLIFORMES TOTALES	<10	<10	<10	20	<10	<10	<10	<10	1,9X10 ²	<10
<i>Escherichia coli</i> (Recuento)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
<i>Staphilococco aureus</i> (Recuento)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
<i>Salmonella spp</i> (Identificación/25g)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

FUENTE: Cano 2011

4.7 CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS**Cuadro. 4.13. Análisis de variancia de los catadores con respecto al color, olor, textura y sabor**

FdV	Gl	COLOR			OLOR			TEXTURA			SABOR		
		SC	CM	F	SC	CM	F	SC	CM	F	SC	CM	F
Total	59	82,18	----	----	55,40	----		84,58	----	----	61,93	----	
Tratamientos	5	57,68	11,54	33,53**	5,80	1,16	1,51 ^{ns}	8,88	1,78	1,63 ^{ns}	7,33	1,47	1,42 ^{ns}
Catadores	9	9,02	1,00	2,91**	15,07	1,67	2,18*	26,75	2,97	2,73*	8,27	0,92	0,89 ^{ns}
Error	45	15,48	0,34	----	34,53	0,77	----	48,95	1,09	-----	46,33	1,03	----
X (escala)		3,28			3,10			3,58			3,37		
CV (%)		17,87			28,26			29,11			30,14		

FUENTE: Cano 2011

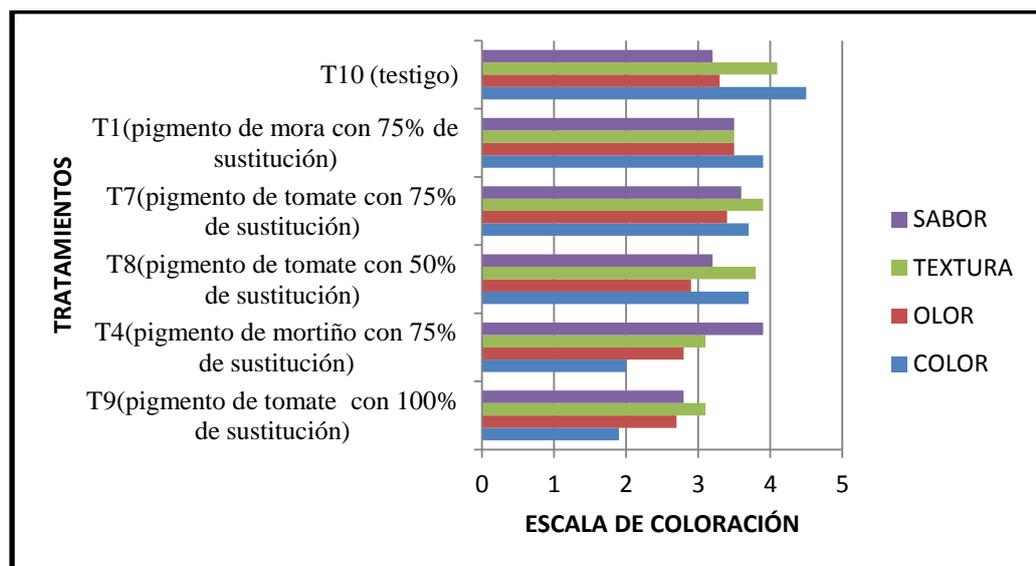
Cuadro. 4.14. Evolución organoléptica del color, olor, textura y sabor de los tratamientos previamente seleccionados en base del color.

TRATAMIENTOS	COLOR	OLOR	TEXTURA	SABOR
T9 C3N3	1,90c	2,70	3,10	2,80
T4 C2N1	2,00c	2,80	3,10	3,90
T8 C3N2	3,70b	2,90	3,80	3,20
T7 C3N1	3,70b	3,40	3,90	3,60
T1 C1N1	3,90b	3,50	3,50	3,50
T10 TESTIGO	4,50a	3,30	4,10	3,20

FUENTE: Cano 2011

Al considerar los resultados de los catadores, se puede ver que T10 testigo presenta el promedio más alto con respecto al color, ya que su pigmentación es el característico de las salchichas comerciales y aceptable para los consumidores, seguido por T1 C1N1 que corresponde al color de mora con 75% de sustitución, luego los tratamientos de tomate de árbol T7 C3N1 con 75% de sustitución y T8 C3N2 con 50% de sustitución.

Con respecto a las demás características estos tratamientos muestran promedios variables pero aceptables para los catadores, en tanto que para T4 C2N1 que corresponde al color de mora con 75% de sustitución y T9 C3N3 que corresponde al color de tomate de árbol con 100% de sustitución, sus promedios son más bajos, descartándose a estos últimos para un potencial uso industrial ya que su coloración no es muy agradable. (Cuadro 4.14.)



FUENTE: Cano 2011

Cuadro. 4.15. Evolución organoléptica del color, olor, textura y sabor de los tratamientos previamente seleccionados en base del color.

4.8 ANÁLISIS ECONÓMICO

Siguiendo la metodología de presupuesto parcial según Perrin *et al.* (1981), se procedió a obtener el beneficio bruto de cada uno de los tratamientos en estudio, que corresponde al precio del valor de un kilogramo, por otro lado se obtuvieron los costos variables que corresponde a los valores de los colorantes obtenidos y los niveles de sustitución, de la diferencia del beneficio bruto menos los costos variables se obtuvo el beneficio neto . (Cuadro 4.15)

Colocando los beneficios netos en orden decreciente se procedió a realizar el análisis de dominancia donde el tratamiento dominado es aquel que a igual o menor beneficio neto presenta un mayor costo variable, de esta análisis se determino que el único tratamiento no dominado fue T10 testigo. (Cuadro 4.16.)

Cuadro. 4.16. Beneficio bruto, Costo variable y Beneficio neto de los tratamientos en estudio

TRATAMIENTOS	PESO (kg)	VALOR	BENEFICIO BRUTO	COSTO VARIABLE	BENEFICIO NETO
T1 C1N1	1	6,1	6,10	2,84	3,26
T2 C1N2	1	6,1	6,10	2,95	3,15
T3 C1N3	1	6,1	6,10	3,15	2,95
T4 C2N1	1	6,1	6,10	3,16	2,94
T5 C2N2	1	6,1	6,10	3,58	2,52
T6 C2N2	1	6,1	6,10	4,41	1,69
T7 C3N1	1	6,1	6,10	3,03	3,07
T8 C3N2	1	6,1	6,10	3,32	2,78
T9 C3N3	1	6,1	6,10	3,88	2,22
T10 testigo	1	6,1	6,10	2,74	3,36

FUENTE: Cano 2011

Cuadro. 4.17. Análisis de dominancia de los tratamientos en estudio

TRATAMIENTOS	BENEFICIO NETO	COSTO VARIABLE
T10 testigo	3,36	2,74
T1 C1N1	3,26	2,84*
T2 C1N2	3,15	2,95*
T7 C3N1	3,07	3,03*
T3 C1N3	2,95	3,15*
T4 C2N1	2,94	3,16*
T8 C3N2	2,78	3,32*
T5 C2N2	2,52	3,58*
T9 C3N3	2,22	3,88*
T6 C2N3	1,69	4,41*

FUENTE: Cano 2011

*Tratamientos dominados

Debido a que únicamente se obtuvo un tratamiento no dominado (T10 testigo). Este se transforma en la mejor alternativa económica y por lo tanto no es necesario realizar el análisis marginal.

V. CONCLUSIONES

La concentración óptima de antocianinas para el tomate (variedad mora) en base a 100g del mucilago interno fue de 0,31059mg/L, para el mortiño en base a 20g de fruta fue 0,044248 mg/L y para la mora en base a 100g de fruta fue de 0,03784 mg/L. Por lo cual podemos establecer que de las tres frutas el tomate es quien presento una mayor concentración y calidad de antocianinas.

La cantidad de pigmento natural a utilizar en 1kg de producto en un 100% de sustitución de nitrito fue para mora 3,2g, para mortiño y tomate 6,4g que represento visualmente el color del testigo.

Las coloraciones obtenidas de las especies vegetales mora, mortiño y tomate de árbol no alcanzaron a las coloraciones conseguido mediante el testigo en el cual se utiliza nitrito.

La coloración de las salchichas obtenidas en base del pigmento extraído del tomate de árbol es la que más se acerca al color que presenta el testigo de acuerdo a una escala establecida.

Mediante el seguimiento de los cambios de color durante su tiempo de almacenamiento que fue de 28 días el color con pigmento antociánico de tomate de árbol fue el más estable ya que su coloración fue muy similar al color obtenido en el producto comercial.

Las coloraciones obtenidas en base de los pigmentos de mora y mortiño no son los adecuados ya que presenta un color desagradable nada parecido al color característico de las salchichas.

Los niveles de sustitución del 75 y 50 % del nitrito en base de pigmento de tomate de árbol presentaron una coloración muy aceptable similar a la del testigo, pero el 100 % de sustitución provoco una calificación de la coloración más baja.

Todos los tratamientos valorados microbiológicamente, presentan una aceptación en cuanto a recuento total de bacterias ya que están dentro de los parámetros dados por las normas para salchichas. En cambio para recuento de coliformes totales y *Escherichia coli* no hay una aceptación ya que están fuera de los parámetros esto se puede deber a que no hubo un control minucioso en el procesamiento de la materia prima.

La sustitución del 75% del nitrito por pigmentos antociánicos de mora y tomate de árbol manifestaron un mejor olor en las salchichas que el testigo.

Con el 75% de sustitución de nitrito por los pigmentos antociánicos de mora, tomate y mortiño se obtuvo un mejor sabor de las salchichas que las elaboradas con el producto comercial.

La mejor alternativa económica constituye el tratamiento T10 por ser el testigo, seguido por el T1 que utilizó extracto de mora con 75% de sustitución de nitrito.

VI. RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar más investigaciones relacionados al uso de colorantes naturales en la industria alimentaria en especial para embutidos ya que el interés de consumir alimentos más sanos está en auge.

Una de las alternativas que se recomienda utilizar y que dieron los mejores resultados en esta investigación, es el colorante obtenido del tomate de árbol y aunque los costos fueron un poco más alto en relación a los costos de producir salchichas con colorante sintético, hay que tener en cuenta que lo que se utilizó es su semilla y a la pulpa se le podría dar un valor agregado como en mermeladas.

Se podría utilizar una sustitución del nitrito del 75% por el colorante natural ya que la coloración fue muy aceptable y sobre toda la presencia de nitrito en las salchichas es mínimo lo que le hace un producto más natural y menos dañino para el consumidor.

Estudiar la posibilidad de abaratar los costos de producción de los colorantes naturales, optimizando el método de extracción ya que esto influyó mucho en los resultados del análisis económico.

VII. BIBLIOGRAFÍA

Arena, I., López, J. 2004. Espectrofotometría de absorción. (en línea). Cuernavaca, México. Universidad Nacional Autónoma de México. Consultado 10 de febr 2010. Disponible en:

http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/met/espectrometria_de_absorcion.pdf

Badui, D. S. 1993. Química de los alimentos. Addison Wesley Longman de México, S. A. DE C. V. México D. F., México.

Bawerman, J.B.S. 1980. Introducción a la bioquímica de los alimentos. Editorial El manual moderno, S.A. DE C. V. México D. F., México.

Castro, J., Cerdas, M. 2005. Mora (*Rubus spp*) Cultivo y Manejo Poscosecha. (en línea). San José, Costa Rica. Ministerio de Agricultura y Ganaderia, Universidad de Costa Rica. Consultado 26 de agosto 2010. Disponible en:

http://www.mag.go.cr/biblioteca_virtual_ciencia/manual_mora_indice.html.

Cuellar, N. Alba, C. *et al.* 2008. Ciencia, Tecnología e Industria de Alimentos. Grupo Latino Editores. Bogota, Colombia.

De la Torre, L., Navarrete, H., Muriel, P., Macía, M. J. y Balslev, H. 2008. Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador. (en línea). Eds. Herbario QCA y Herbario AAU. Quito, Ecuador pp67-70. Consultado 12 oct. 2009. Disponible en:

<http://www.biologia.puce.edu.ec/imagesFTP/10435.Formato.pdf>

Díaz, A., Bárcena, A. *et al.* 2007. Espectrofometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas. (en línea). Córdoba. Consultado 18 jul. 2010. Disponible en: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2005/fap821c/doc/fap821c.pdf>

Farinango, M. 2010. "Estudio de la fisiología postcosecha de la mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth) y de la mora variedad brazos (*Rubus* sp.)": revisión (en línea). Quito, Ecuador. Escuela Politécnica Nacional. Consultado 26 de agosto 2010. Disponible <http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/1668/1/CD-2639.pdf>

Fennema, O. 2000. Química de los Alimentos. Editorial. Acribia, S.A. Zaragoza, España.

Garzón, G. 2008. Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos. (en línea). Bogotá, Colombia. Universidad Nacional de Colombia. Consultado 10 de febr 2010. Disponible en:

<http://www.virtual.unal.edu.co/revistas/actabiol/PDF's/v13n3/v13n3a2.pdf>

Jibaja, H. 2010. Modelado de la cinética de absorción de aceite durante el proceso de fritura al vacío de hojuelas de tomate de árbol (en línea). Quito, Ecuador. Escuela Politécnica Nacional. Consultado 30 de agosto 2010. Disponible en:

<http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/2200/1/CD-2955.pdf>

Kira, R. S., Sawyer, R., Egan, H. 1996. Composición y análisis de alimentos de Pearson. Ed. Continentas S.A. DE C.V. México, D.F., México.

Leyva, D. 2009. Determinación de antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante en licores y fruto de mora. (en línea). Oaxaca, México. Universidad Tecnológica de la Mixteca. . Consultado el 25 de marzo.2010. Disponible en:
http://jupiter.utm.mx/~tesis_dig/10876.pdf

López, R., Quiñones, W y Echeverri, F. 2007. Perfil Cromatográfico de las antocianinas presentes en algunos frutos colombianos. (en línea). Pereira, Colombia. . UTP. ISSN 0122-1701 415. pp. 275-276. Consultado el 14 oct. 2009. Disponible en
<http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/849/84903373.pdf>

Menéndez, W. 2008. Obtención de Colorante para Su Uso en Yogurt a Partir de la Flor De Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) y del Mortiño (*Vaccinium myrtillus L.*)”.(en línea). Guayaquil, Ecuador. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Consultado el 25 de nov. 2009. Disponible en:
<http://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/950/1/1802.pdf>

Noboa, V. 2010. Efecto de seis tipos de sustratos y tres dosis de ácido α naftalenacético en la propagación vegetativa de mortiño (*Vaccinium floribundum Kunth*). (en línea). Riobamba, Ecuador. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Consultado 26 de agosto 2010. Disponible en:
<http://www.rlc.fao.org/proyecto/163nze/pdf/doctec/propagacion.pdf>

Organización Mundial de la Salud.1990. Programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias comisión del Codex Alimentarius.

Peguero, F. 2007. Perfil de antocianinas de tres variedades de frijol rojo (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivadas en Honduras. (en línea). Zamorano, Honduras. Zamorano Carrera de Agroindustria Alimentaria. Consultado 10 de febr 2010. Disponible http://zamo-oti-02.zamorano.edu/tesis_infolib/2007/T2467.pdf

Pérez, S., y Valdivieso. 2007. Colección y caracterización morfológica *In situ* del mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth). (en línea). Sangolquí, Ecuador. Escuela Politécnica del Ejército. Consultado 26 de agosto 2010. Disponible en: <http://www3.espe.edu.ec:8700/bitstream/21000/2585/1/T-ESPE-IASA%20I-003248.pdf>

Poo, S. 2005. Concentración de Antocianinas en Jugo de Cranberries (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) mediante Nanofiltración. (en línea). Valdivia, Chile. Universidad Austral de Chile. Consultado 10 de febr 2010. Disponible en: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2005/fap821c/doc/fap821c.pdf>

Ramirez, M., Gonzalez, A y Correa, L.2007. Actividad antimicrobiana, conservante y obtención de un colorante natural a partir de plantas de la región de Boyacá. (en línea).Pereira, Colombia. . UTP. ISSN 0122-1701 415. pp. 515-417.Consultado el 12 oct.2010. Disponible <http://www.utp.edu.co/php/revistas/ScientiaEtTechnica/docsFTP/02537415-417.pdf>

Rebolledo, F. 2007. Determinación del Potencial de Coloración en Alimentos de un Concentrado de Jugo de Cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) Obtenido por Nanofiltración. (en línea). Valdivia, Chile. Universidad Austral de Chile. Consultado el 13 de febr 2011. Disponible

<http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2007/far292d/doc/far292d.pdf>

Rodas, M. 2005. Determinación de la concentración de nitritos y nitratos en salchichas ofertada que se comercializa en los supermercados de la ciudad capital. (en línea).Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. Consultado 12 de febr 2010. Disponible http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2382.pdf

Ruiz, J. Lafargu, M. Prometa, M. y García, M.2007. Caracterización del riesgo de nitrito de sodio mediante la estimación de la ingestión diaria máxima teórica y la ingestión diaria efectiva por estudiantes del municipio de Santiago de Cuba.(en línea). Cuba. Consultado 10 de abr 2010. Disponible en:

[//www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/vigilancia/ruiz.pdf](http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/vigilancia/ruiz.pdf)

Salas, G. L. 2003. Educación Alimentaria, manual indispensable en educación para la salud. Ed. Trillas. México, D. F. pp. 97.

Soria, J., Franco, M., Pelayo, C., Armella, M., Yáñez, M., Guerrero, I.2007. Caracterización parcial del pigmento rojo del fruto de la Jiotilla (*Escontria chiotilla*[Weber] Britton & Rose).(en línea).Distrito Federal, México. Universidad Autonoma metropolitana-

Iztapalapa. ISSN16165-2738. pp.19-25. Consultado 4 ene 2010. Disponible
<http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/620/62060103.pdf>

Vargas, M. 2007. Evaluación bioquímica de salchichas tipo Frankfurt antes de su consumo:
revisión (en línea). Caldas, Colombia. Universidad de Caldas. Consultado 12 de febr
2010. Disponible
http://200.21.104.25/udecaldas/downloads/Udecaldas25-2_10.pdf

VIII. ANEXOS

