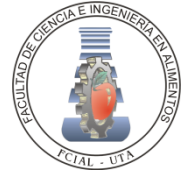




UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS
CARRERA INGENIERÍA BIOQUÍMICA



**“OBTENCIÓN DE UN COLORANTE A PARTIR DE LAS FLORES
DE ATACO O SANGORACHE (*Amaranthus sp.*)”**

Trabajo de Investigación (Graduación), Modalidad: Trabajo Estructurado de Manera Independiente (TEMI) presentado como requisito previo a la obtención del título de Ingeniera Bioquímica otorgado por la Universidad Técnica de Ambato a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

Autora: Carolina Hipatia Galarza Medina

Tutor: Dr. Ramiro Velasteguí Ph. D.

Ambato – Ecuador

2013

APROBACIÓN DEL TUTOR

En calidad de Tutor del Trabajo de Investigación (Graduación) sobre el tema:

“OBTENCIÓN DE UN COLORANTE A PARTIR DE LAS FLORES DE ATACORO SANGORACHE (*Amaranthus sp.*)”, elaborado por Carolina Hipatia Galarza Medina, egresada de la Carrera de Ingeniería Bioquímica, de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos e Ingeniería Bioquímica, Universidad Técnica de Ambato, certifico que el trabajo fue realizado por la persona indicada en el Laboratorio de Físico-Química y Análisis Instrumental de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato.

Considero que dicho informe investigativo reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometidos a la evaluación del Tribunal de Grado, que el Honorable Consejo Directivo designe, para su correspondiente estudio y calificación.

Ambato, Junio de 2013

Dr. Ramiro Velasteguí Ph. D.

AUTORÍA

El presente trabajo de investigación: **“OBTENCIÓN DE UN COLORANTE A PARTIR DE LAS FLORES DE ATACO O SANGORACHE (*Amaranthus sp.*)”**, es absolutamente original, auténtico y personal, en tal virtud, el contenido, efectos legales y académicos que se desprenden del mismo son de exclusiva responsabilidad de la autora.

Ambato, Junio de 2013

CAROLINA HIPATIA GALARZA MEDINA

CI: 180403126-6

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS
CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS E INGENIERÍA BIOQUÍMICA

Los miembros del Tribunal de Grado aprueban el presente Trabajo de Graduación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Ambato.

Ambato, Junio de 2013

Para constancia firman:

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

DEDICATORIA

A mis padres Marco e Hipatia, por su apoyo incondicional, por soportar con infinita paciencia mi fragilidad y mis manías, porque siempre velaron por mi bienestar y por brindarme sus sabios consejos.

A mi hermana Sofía porque en esos momentos de alienación estuvo conmigo y me ayudo a soportarlo y resolverlo.

A mi sobrina Evelin, por ser mi “Pepito Grillo” inocente y sincero, por hacerme reír y ver el futuro de una manera más cierta y la vida de una manera más dulce.

Carolina

AGRADECIMIENTO

A mi singular familia por regalarme su inmenso amor y apoyarme siempre.

A mí apreciado amigo y maestro, mi tutor, Dr. Ramiro Velasteguí, por su gran paciencia, buenos consejos y por su apoyo académico.

A mí querido amigo y maestro Dr. Roman Rodríguez, por su ayuda siempre oportuna, por su apoyo académico y por regalarme su amistad.

A la Ing. Gladys Risueño por las facilidades brindadas para el uso de equipos en el laboratorio LACONAL.

A la Ing. Dolores Robalino, por sus enseñanzas y por la gran la ayuda prestada en la realización de este trabajo

A la Dra. Verónica Labre, Psicóloga Clínica, profesora de la carrera de Psicología Clínica de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Técnica de Ambato, porque sin su apoyo y seguimiento psicológico, la culminación de este trabajo habría sido simplemente imposible.

A mí estimada amiga, Sra. Lcda. Teresita Luzuriaga, secretaria de la UOITA, quien me ha apoyado de una manera casi maternal, en momentos complicados donde me encontraba un poco limitada.

A mi Padre, a mis tíos Pedro y Luis, a mi abuelito Papá Lucho, por apoyarme desde su área académica y profesional en la realización general de este trabajo y en el diseño de la máquina con la que se extrajo el colorante.

A mis queridos amigos y compañeros, ayudantes de laboratorio Anita Arias, Jenny Correa, Alejandro Lozada y Luis Zambrano por su disponibilidad para préstamo de equipos, materiales y reactivos, por proporcionarme consejos académicos y más importante por su cariñosa y sincera amistad.

A mi amiga Cristina Flores por ser una amiga leal durante todos estos años y porque de una u otra forma siempre estuvo presente durante este proceso.

Carolina

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

PÁGINAS PRELIMINARES

	Pág.
Aprobación del Tutor.....	i
Autoría.....	ii
Aprobación del Tribunal de Grado.....	iii
Dedicatoria.....	iv
Agradecimiento.....	v
Índice General de Contenidos.....	vi
Índice de Tablas	viii
Índice de Gráficos	ix
Índice de Anexos	ix
Resumen	x
Introducción	xi

CAPITULO I

PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

1.1 Tema	1
1.2 Planteamiento del Problema	1
1.2.1 Contextualización	1
1.2.2 Análisis crítico	5
1.2.3 Prognosis	5
1.2.4 Formulación del Problema	6
1.2.5 Preguntas Directrices	6
1.2.6 Delimitación del Objeto de Investigación	6
1.3 Justificación	6
1.4 Objetivos	8

CAPITULO II
MARCO TEORICO

2.1 Antecedentes Investigativos	9
2.2 Fundamentación Filosófica	22
2.3 Fundamentación Legal	22
2.4 Categorías Fundamentales	24
2.5 Hipótesis.....	24
2.6 Señalamiento de Variables	25

CAPITULO III
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 Modalidad Básica de la Investigación	26
3.2 Nivel o Tipo de Investigación	26
3.3 Población y Muestra	27
3.4 Operacionalización de Variables	30
3.5 Plan de Recolección de Información	31
3.6 Plan de Procesamiento de la Información	36

CAPITULO IV
ANÁLISIS E INTERPRETACION DE RESULTADOS

4.1 Análisis e Interpretación de Resultados	37
4.2 Verificación de Hipótesis.....	39

CAPITULO V
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones	40
5.2 Recomendaciones	41

CAPÍTULO VI

PROPUESTA

6.1 Datos Informativos	43
6.2 Antecedentes de la Propuesta	44
6.3 Justificación	45
6.4 Objetivos	46
6.5 Análisis de Factibilidad	47
6.6 Fundamentación	49
6.7 Modelo Operacional o Plan de Acción.....	50
6.8 Administración	52
6.9 Previsión de la Evaluación	53
Bibliografía	54
Anexos	59

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Fabricación de Sustancias y productos Químicos en el Ecuador.....	4
Tabla 2. Factores de estudio del diseño experimental AxBxC.....	28
Tabla 3. Tratamientos del diseño experimental AxBxC	30
Tabla 4. Caracterización de las plantas de la Muestra	31
Tabla 5. Pruebas químicas para la Identificación del Colorante.....	47
Tabla 6. Evaluación de la Estabilidad del Colorante.....	49
Tabla 7. Tratamiento del Diseño Experimental AxBxC para la estabilidad	35
Tabla 8. Ensayos para cantidad adecuada de colorante	49
Tabla 9. Modelo Operativo (Plan de Acción).....	50
Tabla 10. Administración de la Propuesta.....	51
Tabla 11. Previsión de la Evaluación.....	52

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Fabricación de sustancias y productos químicos en el Ecuador.....	4
Gráfico 2. Árbol de problemas.....	5
Gráfico 3. Estructura general de las Antocianinas.....	13
Gráfico 4. Antocianinas.....	14
Gráfico 5. Estructura general de las Bataínas.....	15
Gráfico 6. Betacianinas y betaxantinas.....	15
Gráfico 7. Ácido betalámico.....	16
Gráfico 8. Estructura de la amarantina.....	17
Gráfico 9. Flujograma de manejo del material vegetal (<i>Amaranthus</i> sp.).....	32
Gráfico 10. Flujograma de manejo de obtención del colorante.....	33

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Resultado de pruebas químicas y espectrofotometría para la identificación del Colorante.....	60
Anexo 2. Mezcladora de material reciclado construida para la Extracción del Colorante.....	63
Anexo 3. Formulas, datos y resultados.....	65
Anexo 4. Análisis estadístico para la extracción del Colorante.....	71
Anexo 5. Análisis estadístico para las pruebas de Estabilidad del Colorante.....	78
Anexo 6. Pruebas Organolépticas.....	84

RESUMEN

En el presente estudio se buscó obtener un colorante aprovechando las flores de Ataco o Sangorache (*Amaranthus sp.*), se utilizó esta parte porque estas forman inflorescencias cuya forma es glomerular y de un intenso color rojo-violeta.

Las plantas de Ataco o Sangorache (*Amaranthus sp.*) fueron adquiridas en el mercado Modelo de la ciudad de Ambato. Para evitar daños de la sustancia que otorga el color a las flores, se secaron usando un horno doméstico a 65°C durante 25 minutos. Después se molieron usando un molino casero ajustado para obtener un polvo muy fino.

Se probaron dos solventes para la extracción del colorante, metanol y agua, que fue el solvente que dio mejores resultados, así mismo se probaron diferentes relaciones material vegetal: volumen de solvente y tiempos de mezcla; para esta última se construyó una máquina de partes recicladas de diseño propio. Todas las extracciones fueron realizadas a temperatura ambiente del laboratorio, para evitar la desnaturalización de la sustancia que otorga el color.

Se determinó que se necesita emplear una relación mv: volumen de solvente de 1:75, mezclar durante 60 minutos a la velocidad alta, que es de 396 rpm aprox., para obtener la mayor concentración de 9.75 mg/100 g de material vegetal del colorante.

Además con el mejor tratamiento antes descrito, se realizaron ensayos para probar la estabilidad del colorante, para lo cual se modificó la acidez del colorante, también se varió la temperatura a la que se almacenaba la muestra y la cantidad de luz a la que se expondría durante el almacenamiento.

Los resultados indican que la mayor retención de pigmentos se obtiene cuando el colorante está a pH 5, en refrigeración y expuesto a la luz ambiental; que es la mejor forma de conservar el colorante.

La espectrofotometría fue el método empleado para determinar las concentraciones del colorante, para lo cual se utilizó el buffer McIlvaine.

INTRODUCCIÓN

En el Ecuador la producción de sustancias y productos químicos no es común y es relativamente baja, en su mayoría estas sustancias se producen en las provincias del Guayas y Pichincha con el 54% y 41% respectivamente son las que más contribuyen.

Este trabajo determinó si el colorante extraído de las flores de Ataco o Sangorache (*Amaranthus* sp.) puede tener diferentes usos, para lo cual se ensayaron dos tipos de solventes, agua y metanol y se construyó una máquina con partes recicladas de diseño propio.

El colorante se caracterizó a través de pruebas químicas y de la espectrofotometría, de igual forma se realizaron pruebas para determinar las condiciones de almacenamiento del colorante para evitar que se dañe.

El colorante obtenido es una betacianina, perteneciente al grupo de las betalaínas, identificada como Amarantina (Cai, et al, 1998), cuya absorbancia se da a 537 nm, usando agua como solvente.

El colorante obtenido puede ser utilizado para colorear alimentos, pues tiene un color rojo-violeta intenso y muestra estabilidad en las condiciones habituales en los alimentos como la acidez, temperatura y presencia de luz.

El Ataco o Sangorache (*Amaranthus* sp.), pertenece a la familia Amaranthaceae o Amarantácea, que pertenece al orden *Caryophyllale*; fundamentalmente son hierbas, rara vez trepadoras, también arbustos o arbolitos

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 Tema

Obtención de un colorante a partir de las flores de Ataco o Sangorache (*Amaranthus sp.*)

1.2 Planteamiento del problema

1.2.1 Contextualización

Macro

El número de colorantes aprobados para el uso en la industria a nivel mundial que podrían ser definidos como naturales son pocos y sólo unos cuantos son comercialmente importantes, como la cochinilla y el carbón.

Muchos de los ingredientes naturales usados en la industria cosmética según la publicación “FAO Natural colorants and dyestuffs”, que incluye una descripción de los principales colorantes que se comercializan internacionalmente, no hace mención a ninguna producción en los países europeos, con excepción del pimentón dulce de España y de Hungría, aunque este colorante es usado en productos alimenticios (CEMUE, 2006).

En el caso de los productos de higiene personal los colorantes empleados vienen de países en vías de desarrollo, que luego son procesados y vendidos por compradores en Europa, porque su producción de la UE es limitada en aceites esenciales y colorantes naturales (CEMUE, 2006).

En U.S.A. la FDA regula cuales aditivos y colorantes pueden ser utilizados en los alimentos a través del programa de Certificaciones de Color otorgadas por el congreso del país, certificando los colores que pueden ser añadidos como aditivos los alimentos, medicinas, cosméticos y productos sanitarios.

Bajo este programa, los fabricantes de aditivos de color proporcionan lotes de los producidos por ellos, a la CCB (Color Certification Branch) de la FDA. La bCCB analiza la muestra de color aditivo para asegurar que cumple con las especificaciones que figuran en el Código de Regulaciones Federales (21 CFR Parte 74), que identifica los aditivos de color que pueden ser certificables.

En la lista de los permitidos están:

Para alimentos:

- Naranja B.
- Rojo Cítrico No. 2.
- FD&C Rojo No. 3.
- FD&C Rojo No. 40., entre otros

Para farmacéuticos:

- D&C Naranja No. 4.
- D&C Naranja No. 5.
- FD&C Rojo No. 27.
- FD&C Rojo No. 40.
- D&C Violeta No. 2., entre otros

Nota: Cada uno tiene un código que permite ver las especificaciones del proceso de obtención y su caracterización (FDA, 2011).

Actualmente, China es el país en donde se cultiva la mayor superficie de amaranto, con más de 150 mil hectáreas, y posee uno de los bancos de germoplasma más importantes del mundo. Los chinos utilizan la harina para hacer fideos, panqueques y dulces, utilizan el colorante para la salsa de soja, y alcanzan excelentes resultados empleando la planta como forraje para animales.

La India es otro de los principales productores del mundo; tanto el grano como las hojas se encuentran en numerosos platos de la cocina tradicional hindú. Este país se ha convertido en un centro secundario de diversificación y cuenta con el segundo banco de germoplasma de amaranto más relevante del planeta (Pantanelli, s/a).

Meso

La producción de amaranto en Perú, es una tradición milenaria que decayó largos siglos. Durante el año 2000 se cosecharon 1800 hectáreas y se produjeron 2700 toneladas, y en el primer semestre de 2001 la producción aumentó 50% respecto al mismo período del año anterior. Los avances agronómicos en este país son muy importantes, cuenta con dos de las colecciones de germoplasma de amaranto más importantes del mundo y es el país donde se han alcanzado los mayores rendimientos. En algunos ensayos experimentales se obtuvieron rendimientos en grano de hasta 72 qq/ha de grano, muy superiores al promedio mundial, que ronda 10- 30 qq/ha. (Pantanelli, s/a).

Durante el año 2004, el Perú, importó desde Estados Unidos y España los extractos curtientes o tintóreos, taninos y sus derivados, pigmentos y demás materias colorantes,

pinturas y barnices, mástiques y tintas son importados en mayores volúmenes de 7 266 475,03 kg desde los Estados Unidos y 6 616 809,88 kg España. (PNI-COP, 2007).

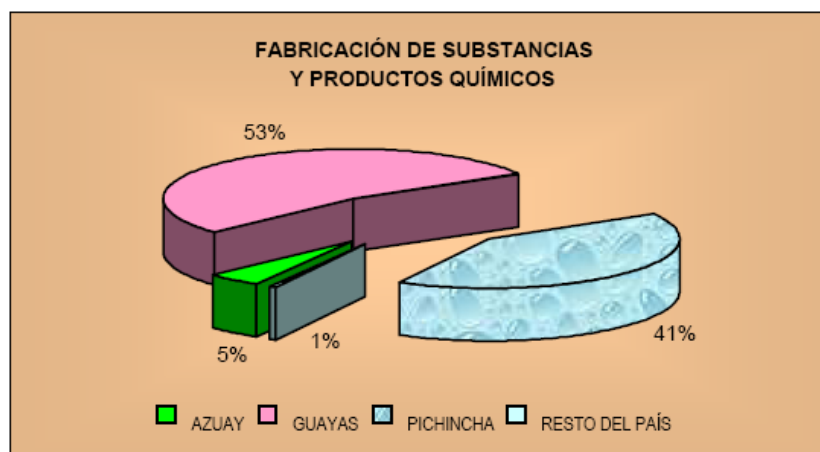
Micro

En la producción de Sustancias y Productos Químicos las provincias del Guayas y Pichincha con el 54% y 41% respectivamente son las que más contribuyen.

Provincias	Fabricación de sustancias y productos químicos (\$)
Azuay	41884.142
Guayas	476776.015
Pichincha	363667.303
Resto del país	5059.107
Total	887386.567

Fuente: INEC 2011

Tabla 1. Producción de Sustancias y Productos Químicos en el Ecuador

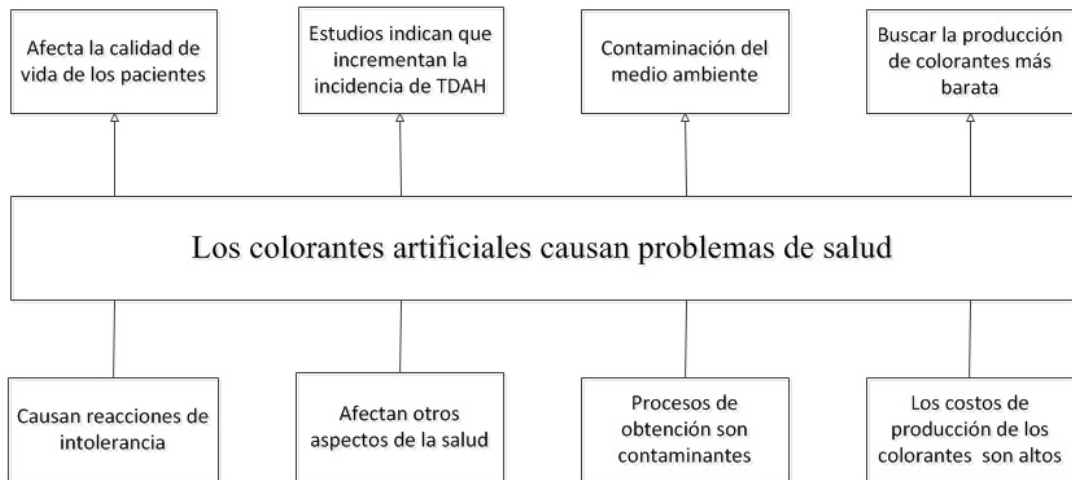


Fuente: INEC, 2011

Gráfico 1. Fabricación de sustancias y productos químicos en el Ecuador

1.2.2 Análisis crítico

EFFECTOS



CAUSAS

Gráfico 2. Árbol de problemas

1.2.3 Prognosis

Si la presente propuesta de investigación no se ejecuta, los productos elaborados con colorantes artificiales seguirán siendo una de las causas de reacciones de intolerancia en las personas sensibles a los colorantes químicos y se evitará que estos afecten otros aspectos de la salud como la incidencia de TDAH, que es trastorno por déficit de atención con hiperactividad.

Además en caso de no realizarse se subutilizaría y desaprovecharía la oportunidad de extender la producción agroindustrial nacional y de mejorar la economía a través del empleo de la flora nativa ecuatoriana para la elaboración de una gran variedad de productos, algunos de ellos utilizables como materia prima.

1.2.4 Formulación del problema

¿Cuál sería el mejor método para obtener el colorante del Ataco o Sangorache (*Amaranthus sp.*)?

1.2.5 Interrogantes (Preguntas Directrices)

1. ¿Cuáles son las condiciones más adecuadas para extraer el colorante de las inflorescencias del Ataco o Sangorache?
2. ¿Qué colorante ha sido extraído?
3. ¿Cómo se afectan el colorante con la influencia de las variaciones de las condiciones de almacenamiento del colorante?
4. ¿En qué productos alimentarios se podría emplear el colorante?

1.2.6 Delimitación del objeto de investigación

Área: Biotecnología

Sub-área: Bioquímica

Sector: Producción de metabolitos

Sub-sector: Obtención de colorantes

Temporal: La investigación se realizará entre los meses de noviembre 2011 – marzo 2012

Espacial: La presente investigación se efectuará en los laboratorios de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato

1.3 Justificación

Para hablar del Ataco, se debe mencionar al amaranto como un nombre que engloba una serie de especies de la familia de las amarantáceas, donde se incluye el ataco o sangorache como se conoce en el Ecuador. (Peralta *et al*, 2008)

Las plantas pertenecientes a la familia de las amarantáceas, son consideradas plantas C4, es decir resistentes o tolerantes a sequía, eficientes en la fijación del anhídrido carbónico (CO₂), no presenta la foto-respiración y demanda menor cantidad de agua para producir la masa cantidad de biomasa (Hauptli, 1977)

La necesidad del estudio de la obtención y posterior empleo del colorante obtenido de *Amaranthus sp.*, radica en la importancia que tiene la coloración de alimentos o textiles, en la determinación de las características físico-químicas y organolépticas que deben

tener los productos elaborados para que tengan buena calidad y la debida aceptación de parte del consumidor intermedio y final con una fácil salida al mercado.

La industria confitera mundial requiere de un pigmento de buena calidad, que pueda ser empleado en diversos procesos, por lo que resulta necesario que los procesos de obtención sean mejorados.

La producción de pigmentos naturales en el Ecuador constituye una opción compatible con la conservación de los recursos naturales en la región Sierra, pues puede ser manejado en forma muy sostenible desde el punto de vista ambiental porque el cultivo de *Amaranthus sp.* constituye parte del ecosistema del callejón interandino y puede crecer en suelos pobres y húmedos, lo cual lo hace una excelente alternativa para regiones con dificultades para la siembra, además puede ser sembrado con otros cereales y otros tipos cultivos, formándose una relación donde ambos cultivos se benefician de la acción del otro en el suelo.

La coloración de alimentos o textiles usando pigmentos naturales obtenidos de plantas o sus partes en la última década ha recibido especial atención, pues ha crecido el interés mundial a consumir y usar productos ecológicos y baratos.

La producción de pigmentos sintéticos ya no resulta igual de conveniente para los productores ni para los compradores, pues los costos son altos, además el público los percibe como peligrosos para la salud y el medio ambiente, consumiendo los productos que los contienen cada vez en menor cantidad.

Esta investigación se realiza a favor del progreso del desarrollo de la tecnología colorativa en el país, de quienes lo siembran y de la ciencia a nivel superior, que impulsa la evolución del país a todo nivel y en todos los aspectos.

1.4 Objetivos

1.4.1 General

1.4.1.1 Obtener un colorante a partir de las flores de Ataco o Sangorache (*Amaranthus sp.*).

1.4.2 Específicos

1.4.2.1 Ejecutar la extracción de un colorante a partir de las flores de Sangorache o Ataco (*Amaranthus sp.*) usando como solvente metanol y agua.

1.4.2.2 Caracterizar el colorante obtenido usando pruebas químicas y espectrofotometría.

1.4.2.3 Evaluar la estabilidad del colorante frente a la variación de las condiciones de almacenamiento

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes investigativos

En el año 2003 en Medellín, Colombia, Jorge Devia y Liliana Saldarriaga realizaron un proyecto de implementación de una planta piloto para obtener el colorante de la semilla del achiote (*Bixa orellana*), pues este colorante se utiliza en las industrias de los derivados lácteos, cárnicos, pintura, tintes, jabones y teñido. La remoción del pigmento de la semilla Annatto (achiote) se realizó por medios biotecnológicos, empleando una solución acuosa de alfa-enzimas a temperatura y tiempo suficientes para la extracción.

En el Salvador, durante 2005, Ruth Emilia de Quintanilla, ejecutó un proyecto para realizar una guía práctica de procesamiento del Añil, basado en los conocimientos de los artesanos ubicados en diferentes zonas del país. La fuente vegetal fue la planta *Indigofera spp.* que crece con facilidad en el clima subtropical del Salvador. Las pruebas de investigación se realizaron en pequeñas pruebas de laboratorio, utilizando 1 litro de agua por 50 gramos de hoja fresca u hoja seca.

Lady Johana Correa *et al*, en el año 2007 estudiaron la Actividad antimicrobiana, conservante y obtención de un colorante natural a partir de plantas de la región de Boyacá – Colombia. Entre las plantas utilizadas estuvo la toronja (*Citrus máxima*,) para determinar su actividad biológica frente a los hongos *Penicillium ssp.*, *Rhizopus ssp.* y *Botrytis cinerea*; y la mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth) a partir de la extracción metanólica de antocianinas presentes.

Familia Amaranthaceae o Amarantácea

Pertenece al orden *Caryophyllales* comprende alrededor de 160 géneros y 2.400 especies.

Fundamentalmente son hierbas, rara vez trepadoras, también arbustos o arbolitos, por lo común con crecimiento secundario anómalo (formación de anillos concéntricos de haces vasculares).

Distribución: Ampliamente distribuidas en regiones tropicales y subtropicales, con pocas especies en las regiones más frías.

Flores: Suelen ser pequeñas, pueden ser solitarias o en inflorescencias, a menudo sostenidas por brácteas pigmentadas o no. Son unisexuales o hermafroditas, pueden ser apétalas pues poseen 3 a 5 pétalos membranosos y los estambres en igual número, están unidos por la base en un anillo.

Inflorescencias: Siempre cimosas. Suelen ser densas o amontonadas, en espigas, cabezuelas o en racimos. (Lecciones Hipertextuales de Botánica, 2010)

Hojas: Tiene las hojas sencillas, unas veces alternas y otras opuestas, pero siempre sin estípulas, es decir sin la estructura laminar, que se forma a cada lado de la base foliar.

Androceo: Con estambres tantos como sépalos y opuestos, libres o más o menos connados en la base, polen pantoporado. Nectario a menudo presente como un anillo en la base del tubo de los filamentos.

Gineceo de 2-3 (4) carpelos, unidos, ovario unilocular, óvulo solitario, basal.

Fruto: un aquenio, núcula, pixidio, con una semilla, a menudo con cáliz persistente.

Tamaño: 65 géneros, 900 especies.

Taxones de interés: géneros *Amaranthus* (5), *Celosia* (60), *Ptilotus* (100), *Alternanthera* (170), *Gomphrena* (100), *Iresine* (70). (Villarías, 2006).

Colorantes

Los colorantes, son sustancias que pueden tener un origen natural (mineral, vegetal o animal) o artificial (azoicos, trifenilmetánicos o cianinas); que sirven para potenciar el color de algunos alimentos, debido a que el alimento ha sufrido pérdida de color durante el tratamiento industrial o para hacerlo más atractivo y/o para teñir papeles, cartones y demás materiales que se utilizan para envolverlos.

Los colorantes tienen aplicación aceptable cuando se usan para tornar más agradable a la vista los alimentos, pero su uso se hace fraudulento cuando se utilizan para enmascarar o disimular alteraciones o sustituciones, o cuando no están permitidos para el consumo humano o animal.

Se les identifica por sus códigos entre el E-100 y el E-180. El número E indica que un aditivo ha sido aprobado por el Codex Alimentarius y la UE, a través del Comité Científico o la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria que tiene que evaluar si el aditivo es seguro; además sirve para etiquetar de manera práctica la información del producto. (European Food information Council, 2006)

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

Los colorantes alimentarios pueden usarse para teñir tejidos, pero no soportan bien el lavado cuando se usan sobre algodón, cáñamo y otras fibras vegetales; algunos colorantes alimentarios hasta pueden ser fijados sobre nailon y fibras animales. (Ibañez, 2010)

Para que un colorante sintético se considere inocuo debe:

- a) Tener una estructura química definida
- b) Poder colorante
- c) Compatibilidad con otros productos
- d) Carecer de olor desagradable
- e) Ser económico.

De esta forma se clasifican en:

1. Categoría A: Colorantes admitidos para uso alimentario.
2. Categoría B: Colorantes que no han sido lo suficientemente estudiados para ser incluidos en la categoría A.
3. Categoría C-I: Colorantes no estudiados de forma exhaustiva, pero de los cuales ya se tienen bastantes datos obtenidos de los ensayos de larga duración.
4. Categoría C-II: Colorantes con datos inadecuados para su evaluación, pero no se conocen resultados de los ensayos de toxicidad de larga duración, como para relacionarlos con procesos cancerígenos.
5. Categoría C-III: Colorantes de los cuales se tienen pocos datos para evaluarlos, pero que son suficientes como para relacionarlos con efectos perjudiciales para la salud.
6. Categoría D: Colorantes de los cuales se desconocen casi por completo, datos referentes a su posible toxicidad. En la etiqueta debe constar el tipo de colorante, en caso de que el alimento lo contenga. (FDA, 2011)

Antocianinas

Los antocianos o antocianinas (del griego anthos=flor y kia- nos= azul) representan una parte importante tanto cuantitativa como cualitativamente de los flavonoides presentes en inflorescencias y frutas de diversos géneros de plantas.

Son los pigmentos rojos y azules de las inflorescencias, tienen características especiales, muy solubles en agua.

Las antocianinas se localizan principalmente en la piel de las frutas como uvas, o en las inflorescencias como rosas o en verduras como la col morada. Su función es atraer a los insectos para propósitos de polinización y dispersión de semillas. (Calvo, 2008)

Las diferencias de color que se observan dependen de la naturaleza y concentración de las antocianinas presentes, entre las más importantes están:

- a) Pelargonidina: Cloruro de 3,5,7-trihidroxi-2-(4-hidroxifenil)-1- benzopirilo

- b) Cianidina: Cloruro de 3,3',4',5,7-pentahidroxi-2-(3,4,5-trihidroxifenil)-1-benzopirilo
- c) Delfinidina: Cloruro de 3,5,7-trihidroxi-2-(3,4,5-trihidroxifenil)-1-benzopirilo
- d) Peonidina: Cloruro de 3,4',5,7-tetrahidroxi-3'-metoxiflavilio
- e) Petunidina: Cloruro de 3,3',4',5,7-pentahidroxi-5'-metoxiflavilio
- f) Malvidina: Cloruro de 3,4',5,7-tetrahidroxi-3',5'-dimetoxiflavilio

Los antocianos se llaman también antocianinas y sus derivados privados del azúcar se denominan antocianidinas. Son más estables bajo la forma heterosídica que bajo la forma aglicona.

Su estructura se caracteriza por un esqueleto básico de quince átomos de carbono (C6-C3-C6) de tipo 2-fenil benzopirona. Son sales de flavilio (de núcleo favilio polihidroxilado y/o metoxilado) y glucósidos (están unidos por enlace glucosídico a una molécula de azúcar).

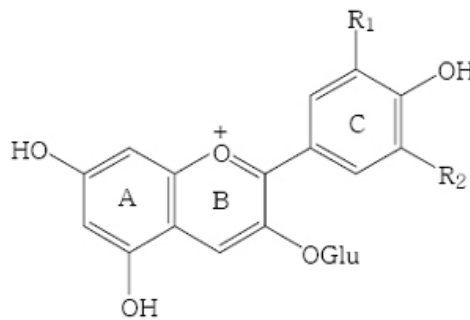
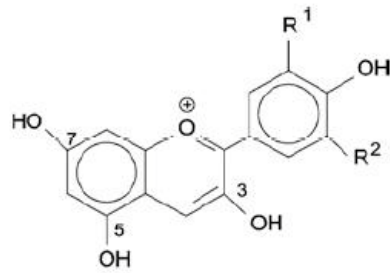


Gráfico 3. Estructura general de las Antocianinas

Las diferencias entre los antocianos individuales se encuentran en el número de grupos hidroxilo de la molécula y el grado de metilación de estos grupos hidroxilo (que son los factores que caracterizan a las diferentes antocianidinas), de la naturaleza y el número de azúcares ligados a la molécula y de su posición de unión, y en la naturaleza y el número de ácidos alifáticos o aromáticos unidos a los azúcares en la molécula.



	R ¹	R ²
Pelargonidina	H	H
Cianidina	OH	H
Peonidina	OCH ₃	H
Delfinidina	OH	OH
Petunidina	OCH ₃	OH
Malvidina	OCH ₃	OCH ₃

Gráfico 4. Antocianinas

En el caso de las antocianinas, las diversas posibilidades de esterificación del azúcar glicosilante tienen un efecto particularmente determinante sobre la estabilidad de la molécula y sus capacidades colorantes. La variabilidad engendrada por esta diversidad de estructuras y la coexistencia de estas diferentes moléculas en una misma planta pueden permitir la variada gama de colores de inflorescencias y frutos. Las antocianinas se localizan en los pétalos de las inflorescencias, estas moléculas hidrosolubles se encuentran dentro de las vacuolas, denominadas “antocianoplastos” o “inclusiones antociánicas vacuolares”

El análisis de los cortes transversales de los pétalos de varios tipos de inflorescencias demuestran que la presencia de las vacuolas se encuentra en la capa epidérmica adaxial de las células. (Cano, 2011)

Betalainas

Este colorante se presenta como un líquido, pasta o polvo de color rojo a rojo oscuro. El pigmento “rojo de remolacha”, “betaína” o “betalaína” tiene la categoría legal de aditivo alimentario, como colorante natural, con el número S.I.N. E-162.

Generalmente se utiliza un extracto de la planta, en el que además del colorante se encuentran otras muchas sustancias, lo que debe tenerse en cuenta, especialmente en la

elaboración de alimentos infantiles. Se utiliza especialmente en derivados lácteos, bebidas refrescantes y derivados de vegetales.

Químicamente las betalaínas son alcaloides derivados del ácido betalámico, por condensación con aminas primarias o secundarias. Son solubles en agua, insolubles en etanol y en las células vegetales se encuentran en disolución dentro de vacuolas.

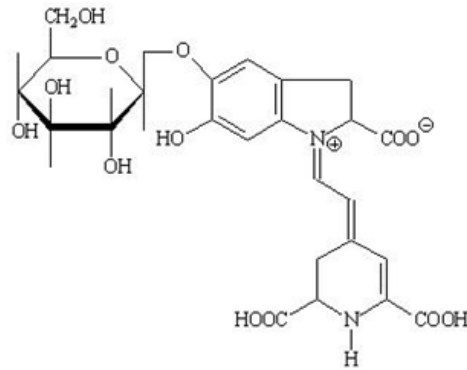


Gráfico 5. Estructura general de las Betalaínas.

Las betalaínas pueden ser de dos tipos: las betacianinas que son de color rojo-violáceo (a) y las betaxantinas (b) anaranjadas amarillentas.

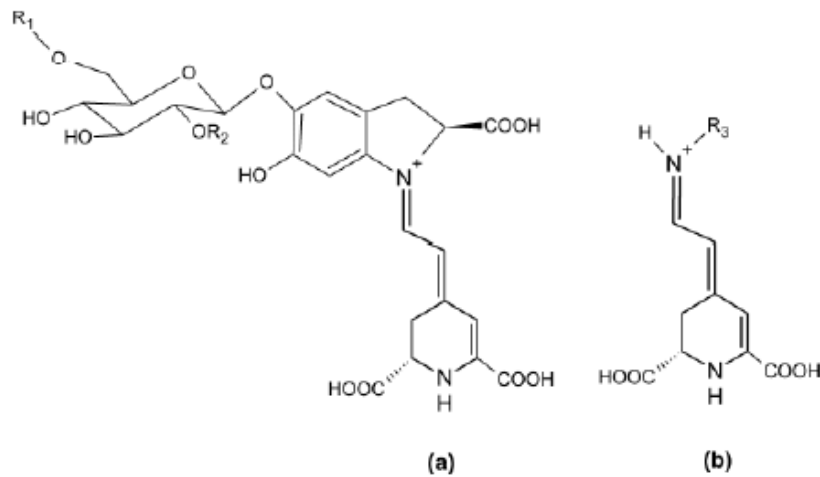


Gráfico 6. Betacianinas y betaxantinas

El ácido betalámico es el cromóforo común a todos los pigmentos betalainicos; las betacianinas tienen un residuo ciclo-DOPA mientras que las betaxantinas tienen aminoácidos o aminas adicionadas en dicha posición. Las betacianinas son glicosidos mayormente de la betanidina, en el caso de la remolacha es el betanidin- 5-O - β - glucósido, llamado comúnmente betanina. (Marañón-Ruiz, 2011)

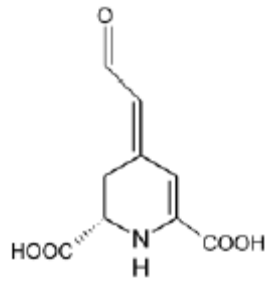


Gráfico 7. Ácido betalámico

El color de las betalaínas no depende del pH, al contrario de lo que sucede en el caso de las antocianinas. Las betacianinas mantienen su color púrpura sin ningún cambio entre pH 4 y 7 y los cambios que se producen a pH tan extremos como 2 ó 9 son pequeños.

Están presentes solamente en el taxón *Caryophyllales* excepto *Caryophyllaceae* y *Molluginaceae*. En contraste, la mayoría de las demás plantas poseen pigmentos que son antocianinas (que pertenecen al grupo de los flavonoides). Las betalaínas y las antocianinas son mutuamente excluyentes, por lo que cuando se encuentran betalaínas en una planta, estarán ausentes las antocianinas, y viceversa.

El consumo de betalaínas reduce significativamente el estrés oxidativo, porque estas sustancias capturan los radicales libres que resultan de metabolismo celular que de seguir libres afectarían el metabolismo. Las betalaínas tienen una función catiónica, por lo que puede asociarse a las membranas por lo que proveen protección ante la arterosclerosis y el cáncer. (Moreno, 2002)

Amarantina

La amarantina es una betacianina presente principalmente en plantas de la familia *Amaranthaceae*, donde coexiste la amarantina y la isoamarantina.

La amarantina e isoamarantina existen también en especies como en especies como *Iresineherbstii*, *Celosiacrisata* y *Gomphrena globosa*. (Mastuni, 2006)

En HPLC el tiempo de retención de las betacianinas decrece con el incremento de la sustitución glicosilica, con ácido glucorónico, la Amarantina tiene dos unidades de con ácido glucorónico en su estructura, por lo que tiene un tiempo de retención menor que las betacianinas, que tienen una sola unidad de glúcido.

una sola unidad de glúcido. (Stintzing, 2003)

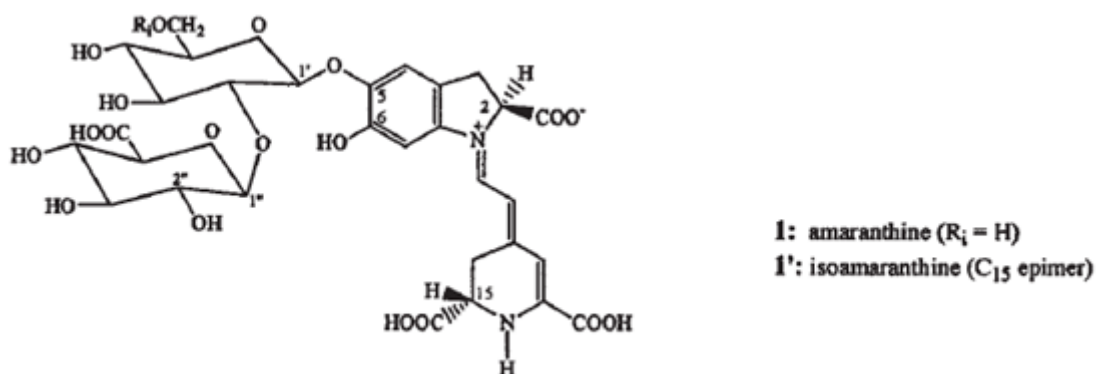


Gráfico 8. Estructura de la amarantina

Extracción

La extracción es la técnica empleada para separar un producto orgánico de una mezcla de reacción o para aislarlo de sus fuentes naturales.

Puede definirse como la separación de un componente de una mezcla por medio de un disolvente, que se lleva a cabo aprovechando las diferencias de solubilidad en un determinado disolvente, comúnmente orgánico, donde los otros compuestos son insolubles.

La extracción puede realizarse a partir de mezclas sólidas o de soluciones de la sustancia deseada en un dado solvente.

En ambos casos debe observarse la formación de dos fases para que el proceso pueda realizarse: en el primer caso una fase sólida y una líquida, mientras que en el segundo caso deben presentarse dos fases líquidas inmiscibles.

Con lo que la extracción consiste en añadir este disolvente al sólido. Para conseguir una extracción rápida y completa, se tiene que brindar al disolvente superficies de

intercambio grandes y recorridos de difusión cortos, esto se puede lograr triturando el sólido a extraer.

Mezclas

Cuando dos o más sustancias puras se mezclan y no se combinan químicamente, aparece una mezcla. Una mezcla puede ser separada en sus componentes (sustancias) simplemente por métodos físicos. Estas pueden ser clasificadas en homogéneas y heterogéneas.

- a) Mezclas heterogéneas: no son uniformes; en algunos casos, puede observarse la discontinuidad a simple vista; en otros casos, debe usarse una mayor resolución para observar la discontinuidad.
- b) Mezclas homogéneas: son totalmente uniformes, es decir, no presentan discontinuidades al ultramicroscopio) y presentan iguales propiedades y composición en todo el sistema, algunos ejemplos son la salmuera, el aire. Estas mezclas homogéneas se denominan soluciones. (DCB -UNL, 2009)

El límite a partir del cual se distinguen los sistemas heterogéneos de los sistemas homogéneos lo constituye precisamente el ultramicroscopio. Los diferentes sistemas homogéneos que constituyen el sistema heterogéneo se denominan fases.

Separación

Existen gran número de métodos para separar los componentes que forman una mezcla; en realidad, cada mezcla implicará el uso de uno o más métodos particulares para su separación en los componentes individuales. Describiremos brevemente solo algunos de estos métodos:

- A) Filtración.- Permite separar sólidos suspendidos en un líquido. Implica el pasaje de todo el líquido a través de un filtro, una placa de vidrio, etc.
- B) Destilación.- Permite la separación de sustancias de diferente punto de ebullición. Consiste en procesos de evaporación - condensación en los cuales se va enriqueciendo la fase vapor en el componente más volátil.
- C) Disolución.- Permite separar un sólido soluble en algún líquido de otro que no lo es.

D) Reparto.- Separa sustancias de diferente solubilidad en otra fase. Consiste en adicionar otra fase al sistema en la cual se disuelva en gran proporción alguna sustancia del sistema original. (DCB -UNL, 2009)

Soluciones

Una solución es una mezcla homogénea de dos o más sustancias dispersadas como moléculas, átomos o iones, en vez de permanecer como agregados de regular tamaño.

Existen soluciones donde las sustancias que se mezclan tienen distintos estados de agregación; así, hay soluciones de gas en gas (las mezclas de gases son soluciones), de gas en líquido, de líquido en líquido, de sólido en líquido, de sólido en sólido (aleaciones).

Una de las sustancias que forman la solución se denomina disolvente; suele ser el componente que se encuentra en mayor cantidad. La otra u otras sustancias en la solución se conocen como solutos.

El solvente o disolvente es el componente considerado como la sustancia que disuelve al otro componente o soluto.

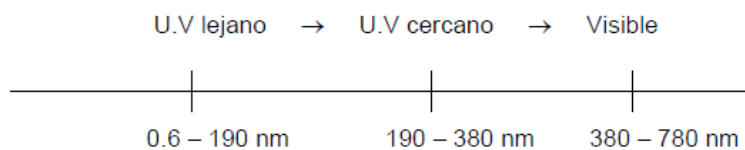
Cuando ambos son líquidos, y uno de ellos es mucho más abundante que el otro, se le llama disolvente al más abundante: en el vinagre, el agua es el disolvente y el ácido acético, el soluto; en un ácido acético ligeramente contaminado con agua, la situación es inversa.

Pero en ocasiones, la denominación de soluto y solvente se realiza simplemente adjudicando el primer nombre a aquella sustancia que nos interesa más desde el punto de vista químico; así, en las soluciones concentradas de ácido sulfúrico (tienen 98 g de ácido por cada 2 g de agua) se llama convencionalmente soluto al ácido sulfúrico. (AQ-UNL, 2009)

Espectrofotometría

La espectrofotometría UV-Visible estudia el fenómeno de adsorción de la radiación UV-visible de moléculas orgánicas e inorgánicas.

La región visible, a la que es sensible el ojo humano, se localiza entre los 380 y 780 nm.



La absorción de la radiación ultravioleta o visible por las moléculas se produce por la excitación de los electrones de enlace, por lo tanto, la longitud de onda de los máximos de absorción se puede relacionar con los enlaces de las especies absorbentes.

Los métodos espectroscópicos se basan en la capacidad de las sustancias de absorber o emitir radiación electromagnética, por lo que se pueden emplear para determinar la concentración de un reactivo o producto durante una reacción.(Martin, 2010)

El aparato llamado espectrofotómetro detecta la cantidad de luz transmitida o absorbida a través de la solución en la celda y la compara con la que se transmite o absorbe a través de una solución de referencia denominada blanco, generalmente agua destilada. La lectura que el aparato emite, está ya convertida en absorbancia.

Todo espectrofotómetro cuenta con los siguientes elementos:

- **Fuente de luz.-** Es un filamento de tungsteno que funciona mediante una fuente de alimentación estabilizada proporcionando una radiación de intensidad constante el tiempo suficiente para asegurar una buena reproducibilidad de las lecturas de absorbancia.
- **Selector de longitud de onda.-** Se trata de una sencilla red de difracción, que permite separar la longitud de onda. Tras seleccionar la longitud de onda la radiación pasa a través de un controlador de luz, que consiste en una abertura en forma de V que se introduce o saca del haz para controlar la intensidad de luz que incide en la fotocelda.
- **Celda.-** Contiene a la solución, generalmente hecha de un material transparente que no absorbe la luz, como cuarzo. Las paredes pueden ser cilíndricas o planas, su longitud y capacidad varía según el equipo y diseño.

- **Detector.-** A éste llega la radiación tras pasar por un filtro y por la muestra. Se basa en el efecto fotoeléctrico de los metales que al irradiarlos generan electrones.
- **Escala de medida.-** La señal eléctrica del detector una vez amplificada se registra bien en una escala analógica o en una pantalla digital que proporcionan los valores de Transmitancia y/o Absorbancia. (Valladares, 2004)

Filtración

Es un método físico-mecánico para la separación de mezclas de sustancias compuestas de diferentes fases, sin que se altere su naturaleza.

La filtración consiste en hacer pasar la mezcla a través de un medio filtrante poroso, quedando retenido el sólido en el filtro y la parte líquida pasa a través de él. (Editores de quimicalibre.com, 2011)

En los procesos de filtración se emplean varios tipos de material filtrante: filtros granulares como arena o carbón triturado, láminas filtrantes de papel o filtros trenzados de tejidos y redes de alambre, filtros rígidos como los formados al quemar ladrillos o arcilla (barro) a baja temperatura, y filtros compuestos de membranas semipermeables.

En función de la finalidad de la filtración, se distingue entre filtración de separación y filtración clarificante.

En el caso de la filtración de separación, se trata de recuperar un determinado sólido de un líquido (torta de filtrado) para seguir trabajando con el sólido, por lo que no se necesita que todas las partículas sean eliminadas del líquido. Inversamente, en la filtración clarificante, el líquido se debe limpiar de los componentes indeseados o precipitados, para poder seguir trabajando con el líquido purificado. (Cruz *et al*, 20069

2.2 Fundamentación filosófica

El positivismo acepta como único conocimiento válido al conocimiento verificable, mensurable y visible. El positivismo no acepta la pertinencia de otras perspectivas, de otros procedimientos metodológicos y otros tipos de conocimientos de interpretación de la realidad; lo que importa para el positivista es la cuantificación y medir una serie de repeticiones que llegan a constituirse en tendencias, a plantear nuevas hipótesis y a construir teorías, todo fundamentado en el conocimiento cuantitativo. Los aspectos cuantitativos están sólidamente mezclados con aspectos cualitativos. En cambio el paradigma naturalista asume que la realidad no existe fuera para que cada quien la vea y la experimente de la misma manera, sino que el mundo se encuentra y se elabora, y el evaluador o investigador mismo constituye parte del fenómeno que estudia.

Algunos afirman que el auge del paradigma naturalista constituye una reacción ante la hegemonía que durante mucho tiempo mantuvo el paradigma positivista, sobre todo en el campo de las ciencias sociales. Consideramos que esto es cierto, pero no se debe olvidar que el paradigma naturalista no es sólo una “reacción”, pues hunde sus raíces en otras tradiciones filosóficas tan antiguas como las que sirvieron de base al positivismo. Hay al menos tres fuentes en la historia de la filosofía el paradigma llamado naturalismo.

2.3 Fundamentación legal

El presente trabajo de investigación tiene relación con la Constitución de la República del Ecuador, que posee los siguientes artículos relacionados con el tema:

Título VII – Régimen del Buen Vivir

Capítulo Primero - Sección Octava

Art.385.- El sistema nacional de ciencia, tecnología, innovación y saberes ancestrales, en el marco del respeto al ambiente, la naturaleza, la vida, las culturas y la soberanía, tendrá como finalidad:

1. Generar, adaptar y difundir conocimientos científicos y tecnológicos.
2. Recuperar, fortalecer y potenciar los saberes ancestrales.

3. Desarrollar tecnologías e innovaciones que impulsen la producción nacional, eleven la eficiencia y productividad, mejoren la calidad de vida y contribuyan a la realización del buen vivir.

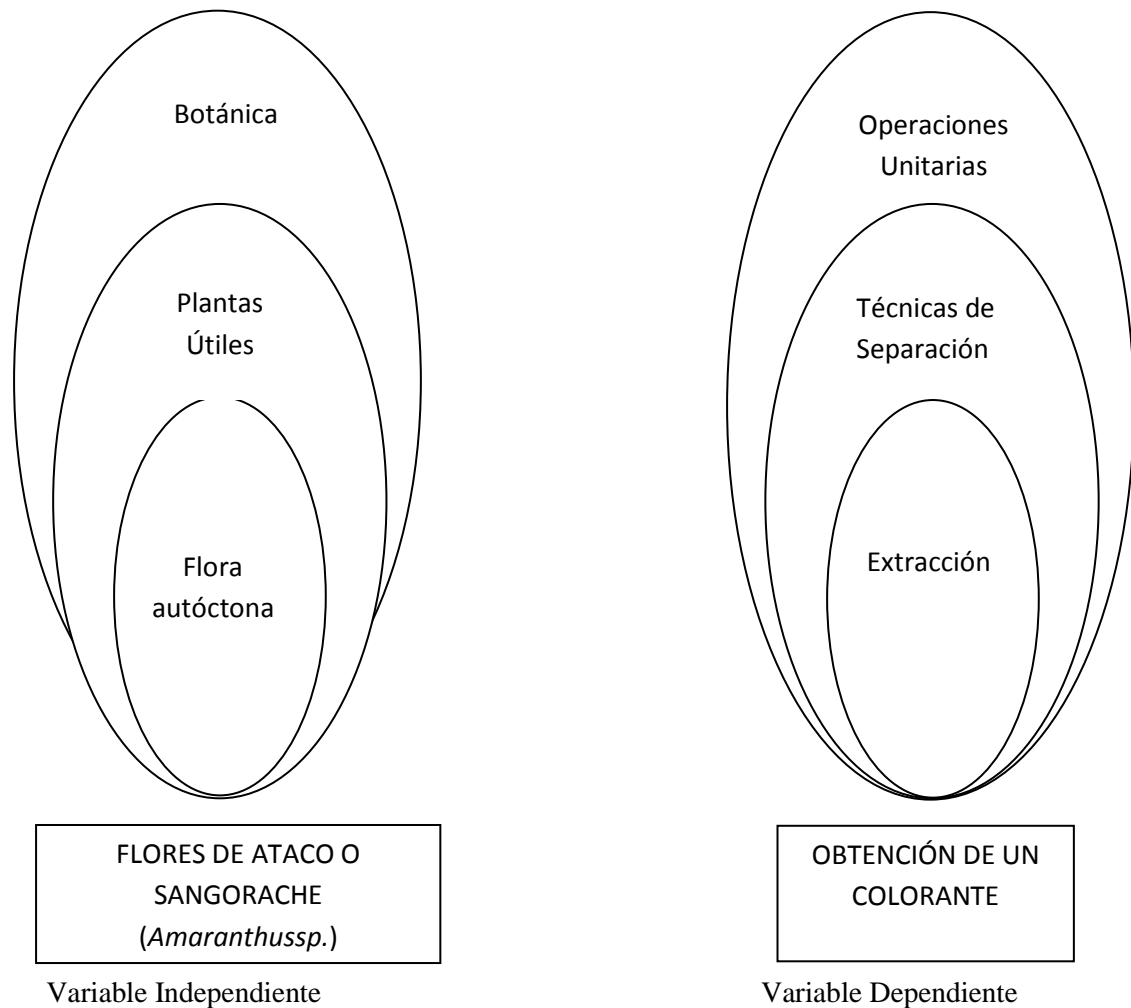
Título VII – Régimen del Buen Vivir

Capítulo Segundo - Sección Quinta

Art.409.- Es de interés público y prioridad nacional la conservación del suelo, en especial su capa fértil. Se establecerá un marco normativo para su protección y uso sustentable que prevenga su degradación, en particular la provocada por la contaminación, la desertificación y la erosión.

En áreas afectadas por procesos de degradación y desertificación, el Estado desarrollará y estimulará proyectos de forestación, reforestación y re-vegetación que eviten el monocultivo y utilicen, de manera preferente, especies nativas y adaptadas a la zona

2.4 Categorías Fundamentales



2.5 Hipótesis

Hipótesis Nula

No se puede obtener un colorante útil a partir de las flores de Ataco o Sangorache (*Amaranthus sp.*)

Hipótesis Alternativa

Se puede obtener un colorante útil a partir de las flores de Ataco o Sangorache (*Amaranthus sp.*)

2.6 Señalamiento de variables de la hipótesis

Variable Independiente: Flores de Ataco o Sangorache (*Amaranthus sp.*).

Variable Dependiente: Obtención de un colorante

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1 Modalidad básica de la investigación

Dentro del trabajo propuesto se va a utilizar las siguientes modalidades de investigación:

Investigación Documental: Constituyéndose en una estrategia donde se observa y reflexiona sistemáticamente sobre realidades (sean teóricas o no), usando para ello diferentes tipos de documentos. Indaga, interpreta, presenta datos e informaciones sobre un tema determinado de cualquier ciencia, utilizando para ello, un método de análisis, cuya finalidad es obtener resultados como base para el desarrollo de la creación científica.

Investigación de campo: Se trata de la investigación aplicada para comprender y resolver alguna situación, necesidad o problema en un contexto determinado. El investigador trabaja en el ambiente natural en que conviven las personas y las fuentes consultadas, de las que obtendrán los datos más relevantes a ser analizados, son individuos, grupos y representaciones de las organizaciones científicas no experimentales dirigidas a descubrir relaciones e interacciones entre variables sociológicas, psicológicas y educativas en estructuras sociales reales y cotidianas.

3.2 Nivel o tipo de investigación

Para la realización del trabajo investigativo en mención se acude a los siguientes tipos de investigación:

Investigación exploratoria, este tipo de investigación, se usa cuando un problema no ha sido bien definido. Las ayudas exploratorias de la investigación determinan el mejor diseño de la investigación, método de la colección de datos y selección de temas. Dado

su naturaleza fundamental, la investigación exploratoria concluye a menudo que no existe un problema percibido realmente.

Investigación descriptiva, consiste en llegar a conocer las situaciones, costumbres y actitudes predominantes a través de la descripción exacta de las actividades, objetos, procesos y personas. Su meta no se limita a la recolección de datos, sino a la predicción e identificación de las relaciones que existen entre dos o más variables. Los investigadores no son solo tabuladores, sino que recogen los datos sobre la base de una hipótesis o teoría, exponen y resumen la información de manera cuidadosa y luego analizan minuciosamente los resultados, a fin de extraer generalizaciones significativas que contribuyan al conocimiento.

3.3 Población y muestra

3.3.1 Población

La población considerada para la presente propuesta de investigación estará compuesta por las plantas de Ataco o Sangorache (*Amaranthus sp.*) que se comercializan en el mercado Modelo de la ciudad de Ambato.

3.3.2 Muestra

La muestra está compuesta por 45 plantas, cada planta mide un promedio de 78,2 cm de longitud, pesa un promedio de 22,154 g y tienen un promedio de 25,8 flores de tamaños variados distribuidas a lo largo del tallo.

3.3.3 Diseño Experimental

Se aplicó un diseño experimental con arreglo factorial AxBxC, porque ayudará a identificar cuales factores influyen directamente en concentración del pigmento obtenido, con lo siguientes factores y niveles.

Los factores a estudiarse con sus respectivos niveles se presentan siguiente tabla.

Factores	Niveles
Factor A: Relación mv : volúmen solvente	a0 = 1 : 25
	a1 = 1 : 50
	a2 = 1 : 75
	a3 = 1 : 100
Factor B: Tiempo de Agitación	b0 = 20 minutos
	b1 = 40 minutos
	b2 = 60 minutos
Factor C: Velocidad de mezcla	c0 = baja (281 rpm)
	c1 = alta (396 rpm)

Tabla 2. Factores de estudio del diseño experimental AxBxC

Modelo Matemático del diseño AxBxC

Para $i = 1, \dots, I, j = 1, \dots, J, k = 1, \dots, K,$

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha\gamma)_{ik} + (\beta\gamma)_{jk} + (\alpha\beta\gamma)_{ijk} + U_{ijk},$$

donde $U_{ijk} \sim N(0, \sigma^2)$ son independientes y

$$\sum_{i=1}^I \alpha_i = 0, \quad \sum_{j=1}^J \beta_j = 0, \quad \sum_{k=1}^K \gamma_k = 0$$

$$\sum_{i=1}^I (\alpha\beta)_{ij} = \sum_{j=1}^J (\alpha\beta)_{ij} = \sum_{i=1}^I (\alpha\gamma)_{ik} = \sum_{k=1}^K (\alpha\beta)_{ik} = \dots = 0$$

$$\sum_{i=1}^I (\alpha\beta\gamma)_{ijk} = \sum_{j=1}^J (\alpha\beta\gamma)_{ijk} = \sum_{k=1}^K (\alpha\beta\gamma)_{ijk} = 0.$$

$\alpha_i, \beta_j, \gamma_k$ = Efectos principales

$(\alpha\beta)_{ij}, (\beta\gamma)_{jk}, (\alpha\gamma)_{ik}$ = Interacciones de segundo orden

$(\alpha\beta\gamma)_{ijk}$ = Interacciones de tercer orden

Tratamientos

Tratamientos	Factor A	Factor B	Factor C
a0b0c0	1:25	20	281
a0b0c1	1:25	20	396
a0b1c0	1:25	40	281
a0b1c1	1:25	40	396
a0b2c0	1:25	60	281
a0b2c1	1:25	60	396
a1b0c0	1:50	20	281
a1b0c1	1:50	20	396
a1b1c0	1:50	40	281
a1b1c1	1:50	40	396
a1b2c0	1:50	60	281
a1b2c1	1:50	60	396
a2b0c0	1:75	20	281
a2b0c1	1:75	20	396
a2b1c0	1:75	40	281
a2b1c1	1:75	40	396
a2b2c0	1:75	60	281
a2b2c1	1:75	60	396
a3b0c0	1:100	20	281
a3b0c1	1:100	20	396
a3b1c0	1:100	40	281
a3b1c1	1:100	40	396
a3b2c0	1:100	60	281
a3b2c1	1:100	60	396

Tabla 3. del diseño experimental AxBxC

Respuesta experimental

La respuesta experimental se obtendrá de la medición de la absorbancia del colorante disuelto, para lo que se utilizará el buffer McIlvaine

3.4 Operacionalización de variables

Operacionalización de Variables

Objetivos Específicos	Variables	Indicadores	Índices
<p>Ejecutar la extracción de un colorante a partir de las flores de Sangorache o Ataco (<i>Amaranthussp.</i>) mediante la mezcla</p> <p>Caracterizar el colorante obtenido usando pruebas químicas y espectrofotometría</p> <p>Evaluar la estabilidad del colorante frente a la variación de las condiciones de almacenamiento</p>	<p>Flores de Ataco o Sangorache (<i>Amaranthus sp.</i>).</p> <p>Obtención de un colorante</p>	<p>Concentración</p> <p>Velocidad</p> <p>Tiempo</p> <p>Temperatura</p>	<p>Peso Volumen</p> <p>rpm</p> <p>Minutos</p> <p>°C</p>

Elaborado por: Carolina Galarza.

3.5 Plan de Recolección de información

La recolección de información empleada en este trabajo es de dos tipos:

- **De Fuentes primarias:**

Esta información se receipta directamente de la realidad a investigar, es decir en los laboratorios de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

- **De Fuentes secundarias:**

Son registros escritos que proceden también de un contacto con la práctica pero que ya han sido recogidos y muchas veces procesados por otros investigadores, es decir información recolectada de fuentes bibliográficas como libros, revistas científicas, tesis, proyectos e Internet.

3.5.1 Caracterización de la muestra

Muestra	Largo (cm)	Peso (g)	Nº de flores
A	88	10,846	26
B	70	20,712	24
C	48	7,956	14
D	95	38,97	35
E	90	32,284	30
Promedio	78,20	22,154	25,80

Tabla 4. Caracterización de las plantas de la Muestra

3.5.2 Metodología para la Extracción del Colorante

3.5.2.1 Material vegetal (*Amaranthus sp.*)

Se lavaron las plantas de *Amaranthus sp.* usando agua potable, la cual que se eliminó dejándolas al sol y con papel absorbente. Después se separaron las inflorescencias del resto de la planta y secaron con aire caliente en el horno de cocina durante 25 minutos a una temperatura de 50 a 60 °C.

Después de que las inflorescencias se enfriaron fueron pulverizadas usando un molino, ajustado para moler lo más finamente posible. Este material seco se almacena en frascos de vidrio ámbar para evitar el contacto con la luz o la humedad

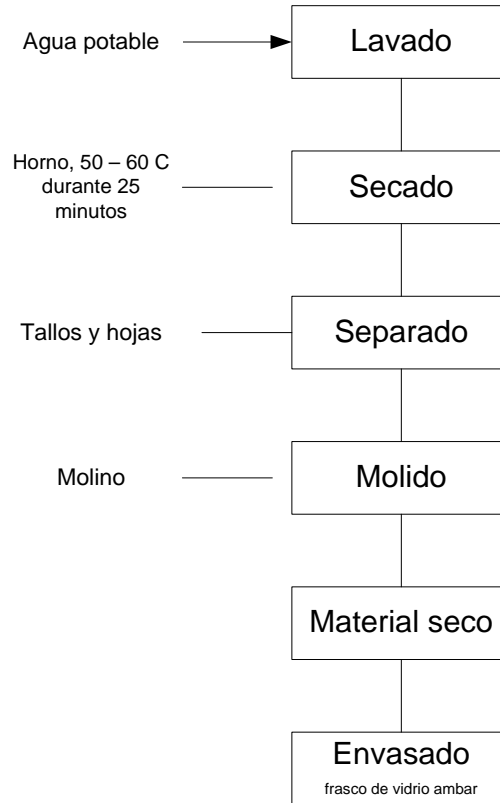


Gráfico 9. Flujograma del manejo del material vegetal (*Amaranthus sp.*)

3.5.2. 2 Obtención del colorante

Las antocianinas y betalainas son los colorantes naturales que visualmente tienen colores parecidos y son capaces de disolverse en agua y metanol, el último solvente presenta ciertas ventajas sobre el agua como la temperatura de ebullición de 65 °C y la capacidad de mantener una temperatura más baja que la del ambiente.

Para asegurar la estabilidad de los colorantes se mantuvo un pH de entre 5 y 6 por lo que el agua y el metanol se acidificó usando HCl 0,01 N o NaOH 0,01 N, para controlarlo se empleó un pH-metro.

Dentro de frascos de vidrio con capacidad de 150 ml de boca ancha, se agitó el material vegetal junto al solvente según las cantidades y durante los tiempos descritos en el diseño experimental con un agitador mecánico construido con materiales de reciclaje.

Después de la mezcla se filtró el extracto a través de varias capas de organza, que es un tipo de tela que no absorbe los líquidos si no que permite el paso del mismo a través de sus poros, para eliminar los restos vegetales de los que ya no se obtengan más colorante y se almacenó en el refrigerador dentro de frascos color ámbar hasta la caracterización del colorante.

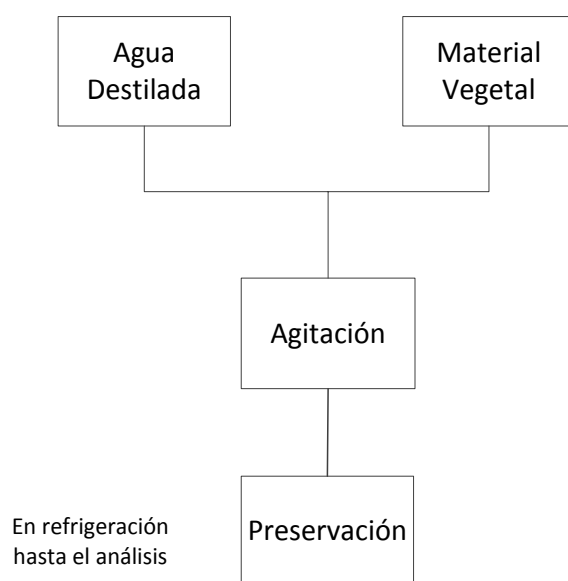


Gráfico 9. Flujograma de obtención del colorante de *Amaranthus sp.*

Especificaciones de los ensayos:

- La temperatura del solvente utilizado es la temperatura ambiental.
- El almacenamiento se realizará en frascos de cristal color ámbar de 25 ml.
- La muestra del colorante se diluirá en el buffer McIlvaine, usando el factor de dilución 1/10.

3.5.3 Metodología para la Identificación del Colorante

Existen dos colorantes naturales que visualmente tienen colores parecidos, que son las antocianinas y betalaínas, por eso se realizaron pruebas químicas que permitieron la identificación.

Prueba	Betalaínas	Antocianinas
Solución caliente de HCl	Destrucción del color	Color estable
Adición de alcalí (NaOH o KOH)	Cambio a color amarillo	Cambio de color a verde azulado
Reacción con acetato de plomo	Precipitado rojo - marrón	Precipitado azul - verdoso o azul - grisáceo

Tabla 5. Pruebas químicas para la Identificación del Colorante

Después de que se determinó la identidad del colorante extraído según las pruebas anteriores, se leyó la absorbancia usando el espectrofotómetro para comprobar su identidad, al comparar los picos de absorbancia obtenidas con los reportados en la bibliografía y determinar su concentración.

3.5.4 Metodología para la Evaluación de la Estabilidad del Colorante

Parámetros de evaluación:

Se aplicó un diseño experimental con arreglo factorial AxBxC, cada uno con diferente número de niveles, con el siguiente modelo Matemático.

Para $i = 1, \dots, I, j = 1, \dots, J, k = 1, \dots, K,$

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha\gamma)_{ik} + (\beta\gamma)_{jk} + (\alpha\beta\gamma)_{ijk} + U_{ijk},$$

donde $U_{ijk} \sim N(0, \sigma^2)$ son independientes y

$$\sum_{i=1}^I \alpha_i = 0, \quad \sum_{j=1}^J \beta_j = 0, \quad \sum_{k=1}^K \gamma_k = 0$$

$$\sum_{i=1}^I (\alpha\beta)_{ij} = \sum_{j=1}^J (\alpha\beta)_{ij} = \sum_{i=1}^I (\alpha\gamma)_{ik} = \sum_{k=1}^K (\alpha\beta)_{ik} = \dots = 0$$

$$\sum_{i=1}^I (\alpha\beta\gamma)_{ijk} = \sum_{j=1}^J (\alpha\beta\gamma)_{ijk} = \sum_{k=1}^K (\alpha\beta\gamma)_{ijk} = 0.$$

$\alpha_i, \beta_j, \gamma_k$ = Efectos principales

$(\alpha\beta)_{ij}, (\beta\gamma)_{jk}, (\alpha\gamma)_{ik}$ = Interacciones de segundo orden

$(\alpha\beta\gamma)_{ijk}$ = Interacciones de tercer orden

Los factores a estudiarse con sus respectivos niveles se presentan en la tabla 4.

Factores	Niveles
Factor A: pH	a0 = 4
	a1 = 5
	a2 = 6
Factor B: Temperatura	b0 = Refrigeración
	b1 = Ambiental
Factor C: Luz	c0 = Oscuridad
	c1 = Luz ambiental

Tabla 6. Evaluación de la Estabilidad del Colorante

Tratamientos

Tratamientos	Factor A pH	Factor B Temperatura	Factor C Luz
a0b0c0	4	Refrigeración	Oscuridad
a0b0c1	4	Ambiental	Luz
a0b1c0	4	Refrigeración	Oscuridad
a0b1c1	4	Ambiental	Luz
a1b0c0	5	Refrigeración	Oscuridad
a1b0c1	5	Ambiental	Luz
a1b1c0	5	Refrigeración	Oscuridad
a1b1c1	5	Ambiental	Luz
a2b0c0	6	Refrigeración	Oscuridad
a2b0c1	6	Ambiental	Luz
a2b1c0	6	Refrigeración	Oscuridad
a2b1c1	6	Ambiental	Luz

Tabla 7. Tratamientos del diseño Experimental AxBxC para la estabilidad

Especificaciones de los ensayos:

- Se realizaron 12 tratamientos, con 3 repeticiones, dando un total de 36 tratamientos.

- Se aplicará espectrofotometría, para analizar la concentración del pigmento luego del almacenamiento en variación de condiciones, usando el buffer McIlvaine.
- La temperatura del ambiente del laboratorio varió entre los 20 a 22°C.
- La oscuridad se conseguirá almacenando el colorante en frascos de cristal color ámbar de 25 ml.
- Para que la muestra este expuesta a la luz se utilizaran tubos de ensayo con tapa de caucho de 10 ml.
- La luz ambiental es la luz que ingresa al laboratorio a través de la ventana.

3.6 Plan de Procesamiento de la información

La información recogida con el uso de los instrumentos necesita de una revisión crítica, para eliminar la información defectuosa, contradictoria, incompleta o no pertinente.

En algunos casos se necesitaran repetir ciertos tratamientos para corregir las posibles errores en la recopilación de datos.

La información ya corregida se tabuló usando el software Excel inicialmente y luego el software estadístico estudiantil InfoStat 2013 para obtener cuadros y gráficos confiables, y así facilitar el manejo de la información.

En esta etapa es necesario analizar y destacar las tendencias y las relaciones fundamentales existentes entre los resultados obtenidos, los objetivos y la hipótesis.

La interpretación de los resultados se hizo de acuerdo al marco teórico, porque solo así se puede estar seguro de que se comprueba la hipótesis, de lo contrario se estaría estableciendo recomendaciones y conclusiones no exactas.

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1 Análisis e Interpretación De Resultados

4.1.1 Extracción del Colorante

La determinación cuantitativa del contenido del colorante se calculó en base al método usando por Cai *et al*, 1998a, para la cual se midió las absorbancias de cada tratamiento, con el uso del buffer McIlvaine para mantener la muestra a pH 5.6, acidez a la que este pigmento tiene mayor estabilidad (Cai *et al*, 2005,2); las concentraciones del pigmento se muestran en la Tabla 1, del Anexo 3.

El análisis estadístico de los resultados antes presentados, se muestran en la Tabla 1, del Anexo 4; el análisis de varianza muestra que los tres factores estudiados tienen influencia en concentración de pigmento extraído.

En la tabla 9, Anexo 4, se presentan la Prueba de comparación de Tukey al 0.05%, para la interacción triple de los factores, el mejor tratamiento resultó ser el $a_2b_2c_1$, (relación material vegetal y del volumen de solvente es 1:75; se mezcla por 60 minutos a 396 rpm aprox.; con una media de 9.75 mg/100 g de material vegetal), lo cual se corrobora también en el Gráfico 8, del Anexo 4, donde se gráfica la concentración vs. la triple interacción de los factores A, B y C.

La alta concentración de pigmento del tratamiento $a_2b_2c_1$, se debe a que la concentración del material vegetal molido es baja, también a que tiene suficiente tiempo de contacto con el agua destilada, además de que la velocidad de mezcla de 396 rpm aprox.

En la tabla 9 y el gráfico 8 del Anexo 4, también se evidencia que el tratamiento $a_2b_0c_0$ $a_2b_0c_0$ (relación material vegetal y del volumen de solvente es 1:75; se mezcla por 20 minutos a 281 rpm aprox.); tienen la concentración más baja de pigmento, por lo que fue el peor tratamiento, esto se debe, a la baja concentración del material vegetal, que

tuvo contacto con el solvente por poco tiempo y con una velocidad de mezcla, que resulta lenta.

4.1.2 Estabilidad del Colorante

La estabilidad del colorante se determina mediante el cálculo del porcentaje de pigmento retenido después de un tiempo de almacenamiento, calculado usando el método descrito por Cai *et al*, 1998b., para la cual se varió la acidez en la que se encontraba el pigmento, usando el buffer McIlvaine elaborado de formas diferentes para mantener la muestra a pH 4, pH 5 y pH 6; además la temperatura y la luz.

Las concentraciones del pigmento se midieron usando el método descrito en el punto 4.1.1. Los resultados del porcentaje de Pigmento Retenido (%P.R.), constan en la Tabla 2, del Anexo 3.

Al realizar el análisis estadístico de estos datos, que se presenta en la Tabla 1, del Anexo 5, el análisis de varianza indica que los factores pH, Temperatura y Luz, ensayados tiene influencia en el porcentaje de pigmento retenido.

Para la interacción triple de los factores de la Prueba de Tukey al 0.05%, demuestra en la tabla 9 y gráfico 8 del Anexo 5, que el tratamiento $a_1b_1c_1$; donde el colorante está a pH 5, en refrigeración y expuesta a la luz ambiental; con una media de 99.61% de pigmento retenido.

El alto porcentaje de pigmento retenido en el tratamiento se debe a que el valor de pH 5 está cercano a pH 5.6 que es donde más estable se encuentra la molécula de betalaína, la temperatura de refrigeración de aproximadamente 4°C no permite la desnaturalización de la molécula, que la luz ambiental haya permitido un alto porcentaje de pigmento retenido, revela que la estabilidad del colorante está poco influenciada por la presencia de luz y que se puede usar en productos alimenticios y no alimenticios que están expuestos a la luz.

En el otro extremo tenemos al tratamiento a₂b₀c₀, donde el valor de pH es 6, se almacenó a temperatura ambiente y en la oscuridad; con una media de 64.10% de pigmento retenido. Esto demuestra que mientras más básico sea el pH menor es la estabilidad del pigmento; también que la temperatura ambiental permite la desnaturalización del pigmento y que la ausencia de luz no ayudo a que la molécula del pigmento se mantenga estable.

4.2 Verificación de Hipótesis

Se rechaza la hipótesis nula que señala de las flores de Ataco o Sangorache (*Amaranthus sp.*) no se puede obtener un colorante útil, puesto que como se presenta en los puntos 4.1.1 y 4.1.2, el colorante obtenido es útil.

En consecuencia, se acepta la hipótesis alternativa, la cual expone que se puede obtener un colorante útil de las flores de Ataco o Sangorache (*Amaranthus sp.*), demostrado por los resultados de los análisis estadísticos obtenidos en el presente estudio.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- Se utilizaron las flores del Ataco o Sangorache porque al observar la planta se puede ver que las flores tienen un atractivo color rojo-violeta, las inflorescencias son grandes y abundantes, creciendo casi en cada rama de la planta.
- El colorante se obtuvo con un aparato construido con partes recicladas, a través de la mezcla del solvente y del material vegetal. El solvente empleado fue el agua y el material vegetal fueron las flores secadas usando un horno de cocina a 65°C aproximadamente durante 25 minutos.

El colorante obtenido fue de color rojo-violeta, por lo que se necesitó de pruebas específicas para identificarlo y poder aprovecharlo correctamente.

- Se concluyó que el solvente óptimo para la extracción del colorante es el agua. El metanol por sí solo no permitió la extracción del colorante, la sustancia extraída era de color verde claro, identificada como clorofila, el solvente metanol resulta difícil y peligroso de manejar. También se utilizaron los dos disolventes mezclados, haciendo diluciones al 50% (agua: metanol), además una al 80% (agua: metanol), pero la concentración del colorante no fue óptima en ninguno de los dos casos.

- Las tres pruebas químicas empleadas demostraron que el colorante obtenido es una betalaína, específicamente una betacianina.

Para el estudio espectrofotométrico se empleó el buffer McIlvaine a pH 5.6, (Cai, 1998) para que la configuración de las muestras sea estable y la lectura sea correcta. Las absorbancias se midieron desde 530 nm hasta 540 nm pues el rango de absorción de estas sustancias; la máxima absorbancia se produjo a 537

nm, lo que según los datos bibliográficos (Peralta, 2008) indica que la betalaína presente es Amarantina.

- Las condiciones de almacenamiento evaluadas fueron la temperatura y el pH, las cuales se variaron y combinaron. Las temperaturas fueron ambiental de aproximadamente de 20 a 22 °C y de refrigeración, 4°C y los valores de pH evaluados fueron 4, 5 y 6 porque esas son los valores de pH a los que comúnmente se encuentran los alimentos que pueden contener colorantes.

5.2 Recomendaciones

- Es necesario que el Gobierno Nacional a través de las instituciones adscritas como el MAGAP, INIAP y otras entidades, promuevan la siembra y utilización del Ataco o Sangorache a través de la promoción de tecnología para su siembra y de la posibilidad de la comercialización de productos hechos con las diferentes partes de la planta.
- A la industria alimentaria, cuyos productos requieran la presencia de colorantes para una mejor presentación de sus productos, utilicen sustancias más inocuas para los consumidores, como el colorante obtenido del Ataco o Sangorache.
- Se recomienda secar la planta de Ataco o Sangorache, usando aire caliente a temperatura media en el tiempo más corto posible a la cosecha, para evitar la pérdida o daño de las sustancias contenidas en las flores y en el resto de la planta.
- Se debe tener en cuenta las otras partes de la planta de Ataco o Sangorache que también presentan coloración morada oscura como los tallos y peciolos de las hojas, utilizándolos para la obtención de colorantes, de modo que no se desperdicie los restos de la planta no empleados en este trabajo
- El equipo utilizado para la extracción, necesita de un mejor control de velocidad para evitar la vibración del equipo y de la muestra y para que se pueda controlar la formación de espuma en el momento de la mezcla.

CAPÍTULO VI

PROPUESTA

6.1 Datos Informativos

6.1.1 Título

“Elaboración de caramelos sabor a mora usando el colorante obtenido de *Amaranthus sp.*”

6.1.2 Unidad Ejecutora

Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Carrera de Ingeniería Bioquímica

6.1.3 Beneficiario

Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Carrera de Ingeniería Bioquímica

6.1.4 Director del proyecto

Dr. Ramiro Velasteguí, Ph D

6.1.5 Personal Operativo

Egda. Carolina Galarza M., Tesista de la Carrera de Ingeniería Bioquímica – Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

6.1.6 Estimado para la Ejecución

3 meses

6.1.7 Fecha

01 de marzo, 2013 – 01 de junio, 2013

6.1.8 Lugar de Ejecución

Laboratorios de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos

6.1.9 Costo

Se estima un valor aproximado de \$1000.

6.2 Antecedentes de la Propuesta

Una vez realizada la investigación se ha llegado a la conclusión, que el colorante obtenido de *Amarathus sp.* puede ser extraído en cantidad suficiente, el costo de obtención no es alto al comparado con los colorantes importados, por lo tanto puede ser utilizado en la fabricación de caramelos ya sea en forma artesanal o industrial.

Los colorantes artificiales son beneficios a nivel industrial por el alto rendimiento en la producción y porque se obtienen a través de reacciones químicas específicas, pero no lo son para los consumidores porque suelen causar intolerancia alimentaria y según varios estudios científicos riesgo de contraer cáncer especialmente si se consumen sin conocimiento.

La tendencia mundial se inclina al consumo de Colorantes procedentes de fuentes naturales porque los consumidores han incrementado su interés por los beneficios para salud porque no solo cumplen la función de colorear, sino que también de actuar como oxidantes gracias a los grupos funcionales por los que están compuestos.

El colorante obtenido es de fácil utilización porque su costo de producción no es alto, se obtiene suficiente colorante en cada extracción y se utilizan únicamente las flores de la

planta, lo que permite el aprovechamiento de los granos y hojas para otros usos como la alimentación.

Además *Amaranthus sp.* puede ser sembrado entre los 1500 a los 2800 m.s.n.m., la temperatura promedio apta para el desarrollo es 15°C y requiere de suelos que en las capas superficiales tengan alto contenido de materia orgánica, con buen drenaje y que pH de 6 a 7,5. El riego para el amaranto es mínimo, en ausencia de lluvia puede ser necesario regar cada 30 días.

Según nuestra necesidad se cosecharan las flores a los 4 o 5 meses de su siembra, antes que estén pierdan la coloración característica.

Aunque el caramelo no es una necesidad alimenticia básica, sin embargo, cada día más consumidores disfrutan de ellos como un bocadillo diario. La importancia económica de la industria de los caramelos se estableció en su producción y comercialización. Los productos estándares de los caramelos han sido modificados, la tendencia ha sido modificada en función de la calidad.

Dado que los estándares de vida alrededor del mundo continúan en alza, la demanda de los caramelos también continuará creciendo.

Los principales consumidores del caramelo, son los niños y adolescentes, pero su consumo es creciente en adultos.

6.3 Justificación

Entre las especies de plantas fundamentalmente utilizadas en el Ecuador están *Asteraceae*, *Lamiaceae*, *Piperaceae*, *Fabaceae* y *Solanaceae*; entre los usos que se les dan están alimentación, aditivos alimenticios, alimento para animales útiles, medicinales y obtención de materiales.

Si se analiza que existen otras especies con diversos potenciales de uso, como *Amarantaceae*, por lo que se concluye que muchas especies de plantas no son manejadas ni explotadas adecuadamente.

El desarrollo del país requiere que los materias primas necesarias para la producción sean de bajo costo, de calidad y accesibles, por lo que es necesario examinar otras fuentes de estos materiales.

Los aditivos alimentarios son sustancias que se añaden a los alimentos para mejorar las características organolépticas, como colorantes, potenciadores del sabor o conservantes, que no se consumen como alimento, no es ingrediente característico en los alimentos y no otorga ni quita valor nutricional.

Según varios estudios indican que los aditivos alimentarios son los responsables de ciertas intolerancias alimentarias, es decir la incapacidad de consumir ciertos alimentos o nutrientes sin sufrir efectos adversos sobre la salud, como hinchazón, urticaria, gases, dolor abdominal, vómitos y diarrea.

Se estima que entre un 5-10% de las urticarias crónicas se deben a algún tipo de reacción adversa a los aditivos. Aunque la mayoría se consideran inocuos en las concentraciones habituales y correctas.

En el caso de la producción de productos que necesitan colorantes como los caramelos, la mayoría de los colorantes se importan del exterior lo que eleva el costo de producción y en ocasiones hace que el fabricante nacional utilice colorantes poco saludables y hasta no permitidos.

Si se tiene un colorante que sea inocuo, de buena calidad y de bajo costo permitiría producir caramelos o cualquier otro producto que necesitan colorantes sin riesgos a la salud y beneficios para la industria alimentaria y principalmente para los consumidores.

6.4 Objetivos

6.4.1 General

- Elaborar caramelos sabor a mora usando el colorante obtenido de *Amaranthus sp.*

6.4.2 Específicos

- Determinar las características fundamentales del caramelo
- Establecer la cantidad adecuada de colorante a emplearse
- Realizar pruebas organolépticas del producto terminado

6.5 Análisis de Factibilidad

Este estudio se hace factible ya que la propuesta se basa en aplicar el colorante obtenido de *Amaranthus sp.*, que sirva como aditivo alimentario en la elaboración de caramelos y otros productos coloreados, con el objetivo que las plantas andinas relegadas alcancen el reconocimiento como útiles para la agroindustria y la industria alimentaria a nivel nacional.

Desde el punto de vista técnico y aplicable el proyecto de investigación es factible ya que se evaluarán parámetros físico – químicos y organolépticos de los caramelos sabor a mora, comparándolos con productos que actualmente se venden en el mercado, accediendo así a establecer los resultados positivos de la aplicación del colorante.

	Costo (\$)
Tutor	800
Tesista	0
	800

Tabla 1. Recursos Humanos

	Unidad	Cantidad		Costo Total (\$)
Ataco o Sangorache	carga	1	2	2
Mora	canasto	1	15	15
Azúcar	kilo	4	0.9	3.6
Glucosa	kilo	1.5	3	4.5
Ácido Cítrico	kilo	1	1.45	1.45
Colorante artificial tipo 1 *	frasco	1	1.5	1.5
Colorante artificial tipo 2 *	frasco	1	1.6	1.6
Saborizante *	frasco	1	1.5	1.5
* para los análisis organolépticos				31.15

Tabla 2. Costos de Materia Prima

	Costo Total (\$)
Utensilios de cocina	10
Bombona de gas	2.5
Mesa de metal	10
Electrodomésticos	10
Moldes	10
Ollas	15
	57.5

Tabla 3. Costos de Equipos

	Costo (\$)
Materia Prima	31.15
Equipos	57.5
Materiales de escritorio	12
Utensilios de cocina	10
Bombona de gas	2.5
Mesa de metal	10
Electrodomésticos	10
Moldes	10
Ollas	15

Ataco o Sangorache	2
Mora	15
Azúcar	3.6
Glucosa	4.5
Ácido Cítrico	1.45
Colorante (comparación)	1.5
Saborizante (comparación)	1.5
	187.7

Tabla 4. Recursos Físicos

	Costo (\$)
Materia Prima	31.15
Equipos	57.5
Materiales de escritorio	12
	100.65

Tabla 5. Recursos Económicos

6.6 Fundamentación

Los caramelos forman parte del grupo de los azúcares, dulces y pastelería. El nombre de caramelo procede del descubrimiento de la caña de azúcar, también llamada “caña de miel” que en latín la denominaban “canna melis” y que finalmente dará lugar a “caramelo”.

Es necesario observar si el caramelo tiene la forma deseada, para ver si resultará agradable al consumidor en el momento de la catación.

6.6.1 Color

Se hará una medición visual del caramelo para ver si tiene el color de los ingredientes usados y si presenta un color diferente saber por qué ocurre.

6.6.2 Cantidad adecuada de colorante

Se realizarán pruebas de a nivel laboratorio con diferentes concentraciones de colorante medidas en mililitros (ml), que se agregaran a la mezcla junto con el saborizante.

Ensayo	Cantidad de Colorante (ml)
1	1
2	2
3	3

Tabla 8. Ensayos para cantidad adecuada de colorante

El resultado de estas pruebas se obtendrá a través de la catación de los caramelos, pues el catador deberá decir si el color del caramelo cuan agradable le resulta el caramelo a la vista, consciente del sabor de mora del mismo.

6.7.3 Pruebas organolépticas

Para estas pruebas se organizará grupos de igual número de personas, que recibirán las muestras de los caramelos elaborados para que degustación junto a una hoja donde deberán llenar los casilleros según su gusto. (Ver Anexo 6)

6.7 Modelo Operativo o Plan de Acción

FASES	METAS	ACTIVIDADES	RESPONSABLE	RECURSOS	COSTOS	TIEMPO
1. Formulación de la propuesta	Caramelos elaborados usando el colorante obtenidos de <i>Amaranthus sp.</i>	Revisión bibliográfica	Investigadora	- Humanos - Técnicos - Económicos	\$100	15 días
2. Desarrollo preliminar de la propuesta	Cronograma de la propuesta	Elaboración de caramelos de mora usando el colorante obtenido de <i>Amaranthus sp.</i>	Investigadora	- Humanos - Técnicos - Económicos	\$200	15 días
3. Implementación de la propuesta	Ejecución de la propuesta	Preparación de los caramelos ensayando la cantidad de colorante a usarse.	Investigadora	- Humanos - Técnicos - Económicos	\$400	1.5 meses
4. Evaluación de la propuesta	Comprobación de los tratamientos aplicados para la elaboración de los caramelos	Análisis organoléptico de los caramelos de mora elaborados	Investigadora	- Humanos - Técnicos - Económicos	\$300	15 días

Tabla 9. Modelo Operativo (Plan de Acción)

6.8 Administración

INDICADORES A MEJORAR	SITUACIÓN ACTUAL	RESULTADOS ESPERADOS	ACTIVIDAD	RESPONSABLES
Manejo y control de la elaboración de caramelos sabor a mora usando el colorante obtenido de <i>Amaranthus sp.</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Los caramelos de mora se fabrican usando colorantes nocivos para la salud. • No se conoce todo el potencial nutritivo o industrial de todas las especies vegetales del Ecuador 	Al conseguir caramelos sabor a mora usando el colorante obtenido de <i>Amaranthus sp.</i> debe contribuir a la mejora de la calidad del producto y la mayor contribución a la salud de los consumidores.	<ul style="list-style-type: none"> • Elaborar caramelos de mora usando el colorante obtenido de <i>Amaranthus sp.</i> de modo que se aproveche las sustancias presentes en esta especie y que permita a los consumidores sensibles a los colorantes disfrutar del producto sin riesgo de enfermarse. • Preparar los caramelos sabor a mora ensayando la cantidad de colorante a usarse, para conseguir que el producto tenga la mejor mezcla entre sabor y color. 	Investigadora

Tabla 10. Administración de la Propuesta

6.9 Previsión de la Evaluación

PREGUNTAS BÁSICAS	EXPLICACIÓN
¿Quiénes solicitan evaluar?	Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Carrera de Ingeniería Bioquímica
¿Por qué evaluar?	El colorante natural no funciona de la misma manera que el colorante o los colorantes artificiales.
¿Para qué evaluar?	Asegurar que el colorante no afecte el sabor ni olor del caramelo.
¿Qué evaluar?	Características físico – químicas y resultados del análisis organoléptico.
¿Quién evalúa?	<ul style="list-style-type: none"> - Director del Proyecto - Investigadora
¿Cuándo evaluar?	El caramelo está terminado.
¿Cómo evaluar?	Se van a evaluar con análisis físico – químicos y análisis organoléptico.
¿Con qué evaluar?	<ul style="list-style-type: none"> • Experimentación • Observación directa

Tabla 11. Previsión de la Evaluación

BIBLIOGRAFÍA

Calvo, Miguel. (2008). Bioquímica de los Alimentos_ Otros pigmentos. Disponible en: <http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/pigmentos/otroscolores.html>.

Cai, Yi-Zhong *et al.* (1998). Colorant properties and stability of *Amaranthus* betacyanin pigments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 2063-2070.

Cai, Yi-Zhong *et al.* (1998). Colorant properties and stability of *Amaranthus* betacyanin Pigments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4491-4495.

Cai, Yi-Zhong *et al.* (2005). Characterization and application of betalain pigments from plants of the Amaranthaceae. *Trends in Food Science and Technology*, 16, 370-376.

Cano, Alejandra. (2011). 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 alimento. Disponible en: <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/4929/1/T-ESPE-IASA%20I-004583.pdf>

CEMUE-PIAPYME. (2006). Productos vegetales naturales de uso en cosmética e higiene personal (nutraceuticos). Disponible en: http://www.economia.gob.mx/swb/work/models/economia/Resource/968/1/images/investigacion_mercado_productos_vegetales_naturales_cosmetica_higiene_personal_UE.pdf.

Correa, Lady *et al.* (2007) .Actividad antimicrobiana, conservante y obtención de un colorante natural a partir de plantas de la region de Boyaca. Disponible en: <http://www.utp.edu.co/php/revistas/ScientiaEtTechnica/docsFTP/02537415-417.pdf>.

Cruz, Ana *et al.* (2006). Estrategias didácticas para la enseñanza de la Química. Disponible en: <http://www.slideshare.net/alealmeida73/mezclas-5817309>

ECUADOR. (2008). Constitución de la República del Ecuador, pp. 170, 171 y 179

Devia, Jorge *et al.* (2003). Planta piloto para obtener colorante de la semilla del Achiote (*Bixa orellana*). Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/pdf/215/21513102.pdf>.

Equipo de editores de Elergonomista.com. Colorantes. (2005). Disponible en: <http://www.elergonomista.com/saludpublica/color.htm>.

Equipo de editores de horabuena.blogspot.com. Caramelos. Propiedades caramelos. Disponible en: <http://horabuena.blogspot.com/2011/11/caramelos-propiedades-caramelos.html>.

Equipo de editores de universia.es. El origen de los caramelos: Golosinas con historia. Disponible en: <http://funversion.universia.es/curiosidades/sorprendente/caramelos.jsp>.

European Food information Council. (2006). Aditivos alimentarios. Disponible en: <http://www.eufic.org/article/es/seguridad-alimentaria-calidad/aditivos-alimentarios/expid/basics-aditivos-alimentarios/>.

FDA. (2011). Color Certification Reports. Disponible en: <http://www.fda.gov/ForIndustry/ColorAdditives/ColorCertification/ColorCertificationReports/default.htm>. Recuperado 18/08/2011

FDA. (2011). Listing of color additives subject to certification. Disponible en: http://ecfr.gpoaccess.gov/cgi/t/text/text-idx?c=ecfr&sid=3f6c9146ba54b1b84f17046e27197926&tpl=/ecfrbrowse/Title21/21cfr74_main_02.tpl.

Giusti, Mónica *et al.* (2001). Characterization and Measurement of anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. Disponible en: <http://www.nshtvn.org/ebook/molbio/Current%20Protocols/CPFAC/faf0102.pdf>.

Hilpert, Hans *et al.* (2007). Betalains _ The Colors of Succulents. Disponible en: <https://www.uzh.ch/oci/ssl-dir/efiles/betalain.pdf>.

Hauptli, H. (1977). Agronomic potencial and breeding amaranth. Proc. First. Amaranth Semin. Emmaus, Pa.

Ibáñez, Francisco. (2010). Aditivos alimentarios. Disponible en:
http://www.nutricion.org/publicaciones/revista_agosto_03/funcionales/aditivos.pdf

Isla, Marylenlid. (2005). Caramelos a base de propóleos y su posible aceptación en la ciudad de Mérida. Disponible en:
http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S079804772005000100002&script=sci_arttext

Lecciones Hipertextuales de Botánica. (2010). Familia Amaranthaceae. Disponible en:
<http://www.biologie.uni-hamburg.de/b-online/ibc99/botanica/botanica/amaranth.htm>.

Marañón – Ruiz, V. (2011). Caracterización de las propiedades ópticas de Betacianinas y Betaxantinas por espectroscopía UV₂v-vis y barrido en Z. Disponible en:
http://smcsyv.fis.cinvestav.mx/supyvac/24_4/SV24411311.pdf

Martín, Ana et al. (2010). Introducción a la Espectroscopía de Absorción Molecular Ultravioleta, Visible e Infrarrojo Cercano. Disponible en:
<http://materias.fi.uba.ar/6305/download/Espectrofotometria.pdf>.

Martínez, Alejandro. (2008). Manual de prácticas de laboratorio de farmacognosia y fotoquímica. Disponible en: <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/manual2008.pdf>.

Mastuni, Retno. (2006). Amaranthus - An Alternative Potential Source of Betalain. Disponible en: <http://retnomastutibiologi.lecture.ub.ac.id/files/2012/06/full-text-i-SIMBIOMAS-2012.pdf>

Moreno, Mario et al. (2002). Degradación de Betalainas en Remolacha (*Beta vulgaris* L.) Estudio Cinético. Disponible en:
<http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/27617/2/articulo10.pdf>

Pantanelli, Andrea. Promete resurrección del amaranto. Revista Alimentos Argentinos, N° 18. Disponible en: http://www.alimentosargentinos.gov.ar/0-3/revistas/r_18/18_07_amaranto.htm.

Peralta, Eduardo *et al.* (2008). El ataco, sangorache o amaranto negro (*Amaranthus hybridus* L.) en Ecuador. Publicación miscelánea No. 143. Programa Nacional de Leguminosas y Granos Andinos. Estación Experimental Santa Catalina. INIAP. Quito, Ecuador.

PNI-COP Perú. (2007). Perfil Nacional para Evaluar la Infraestructura Nacional para la Gestión de Sustancias Químicas. Disponible en: http://revistas.pucp.edu.pe/quimica/sites/revistas.pucp.edu.pe/quimica/files/images/art_5_ngamboa.pdf.

Quintanilla, Ruth. (2005). Guía Técnica: Procesamiento del Añil en El Salvador, Volumen 2. Disponible en: <http://webiica.iica.ac.cr/bibliotecas/replica/B0363E/B0363E.PDF>.

Villarías, José. (2006). Atlas de malas hierbas (4º edición). Madrid – España. Ediciones Mundi-Prensa.

Stintzing, Florian *et al.* (2003). Betacyanins and Phenolic Compounds from *Amaranthus spinosus* L. and *Boerhavia erecta* L. disponible en: <http://pythonkit.com/Betacyanins-and-Phenolic-Compounds-from-Amaranthus-spinosus-L.-and-download-w22050.pdf>

Ushiña, Gustavo *et al.* (2008). Control de Procesos Industriales. Disponible en: <http://es.scribd.com/doc/114663283/informe-produccion-de-caramelos>.

Valladares, Sergio. (2004). Espectrofotometria de Absorcion Molecular Ultravioleta-Visible. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/field/003/ab482s/ab482s03.htm>.

von Elbe, Joachim. (2001). Betaína. Disponible en: <http://www.nshtvn.org/ebook/molbio/Current%20Protocols/CPFAC/faf0301.pdf>.

Wilson, Ericka. (2008).Betalaínas: colorantes naturales con actividad antioxidante.
Disponible en: <http://fitoterapicos.com.ar/articulos/Betala%EDnas.pdf>.

ANEXOS

ANEXO 1

Resultados de prueba químicas y espectrofotometría para la Identificación del Colorante



Gráfico 1. Prueba de Solución caliente de HCl

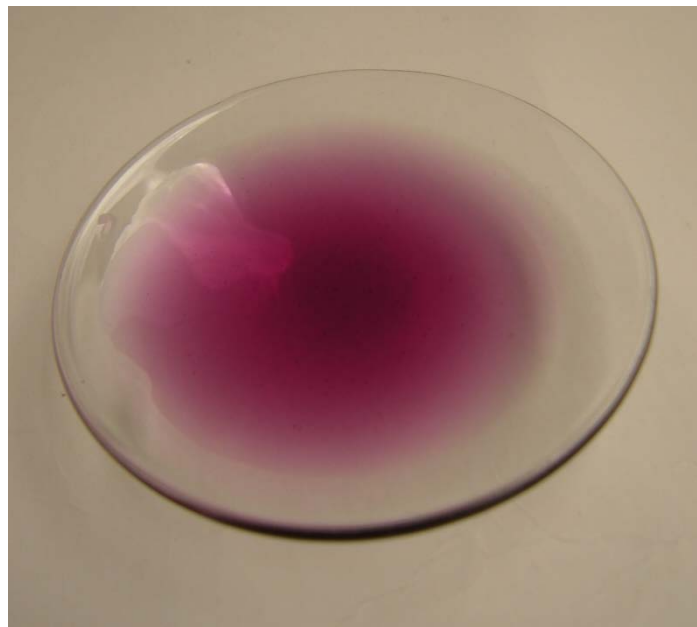


Gráfico 2. Prueba de Adición de álcali (NaOH)

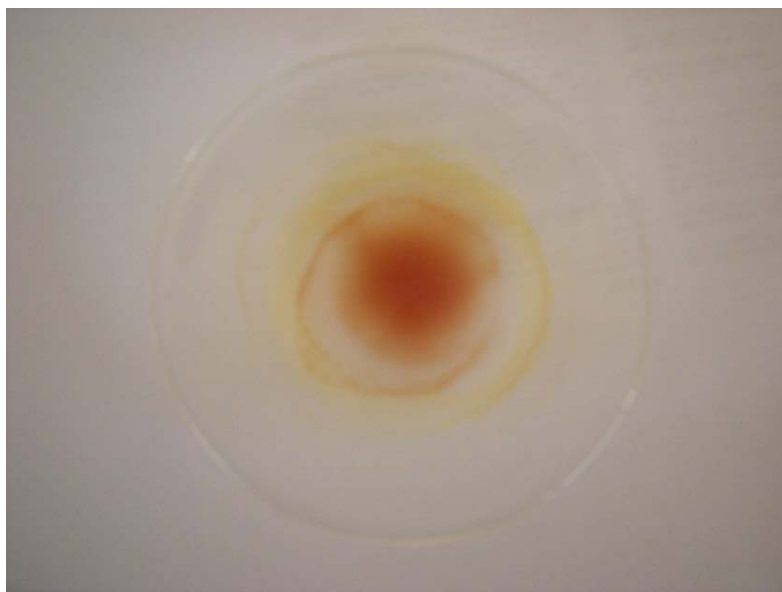


Gráfico 3. Prueba de Reacción con Acetato de Plomo

λ	Abs
530	1.994
531	2.001
532	2.003
533	2.005
534	2.007
535	2.009
536	2.013
537	2.015
538	2.001
539	1.995
540	1.990

Tabla 1. Lecturas de Absorbancias

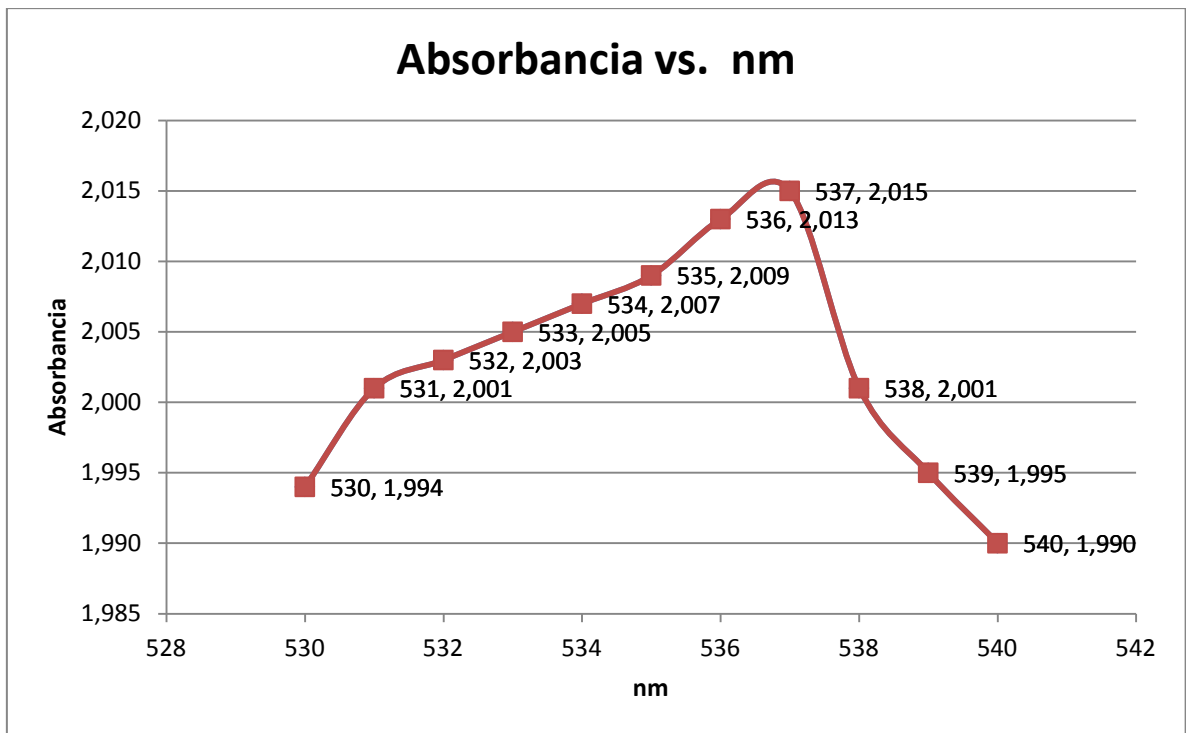


Gráfico 4. Gráfico de Lecturas de Absorbancias

ANEXO 2

Mezcladora de material reciclado construida para la Extracción del Colorante

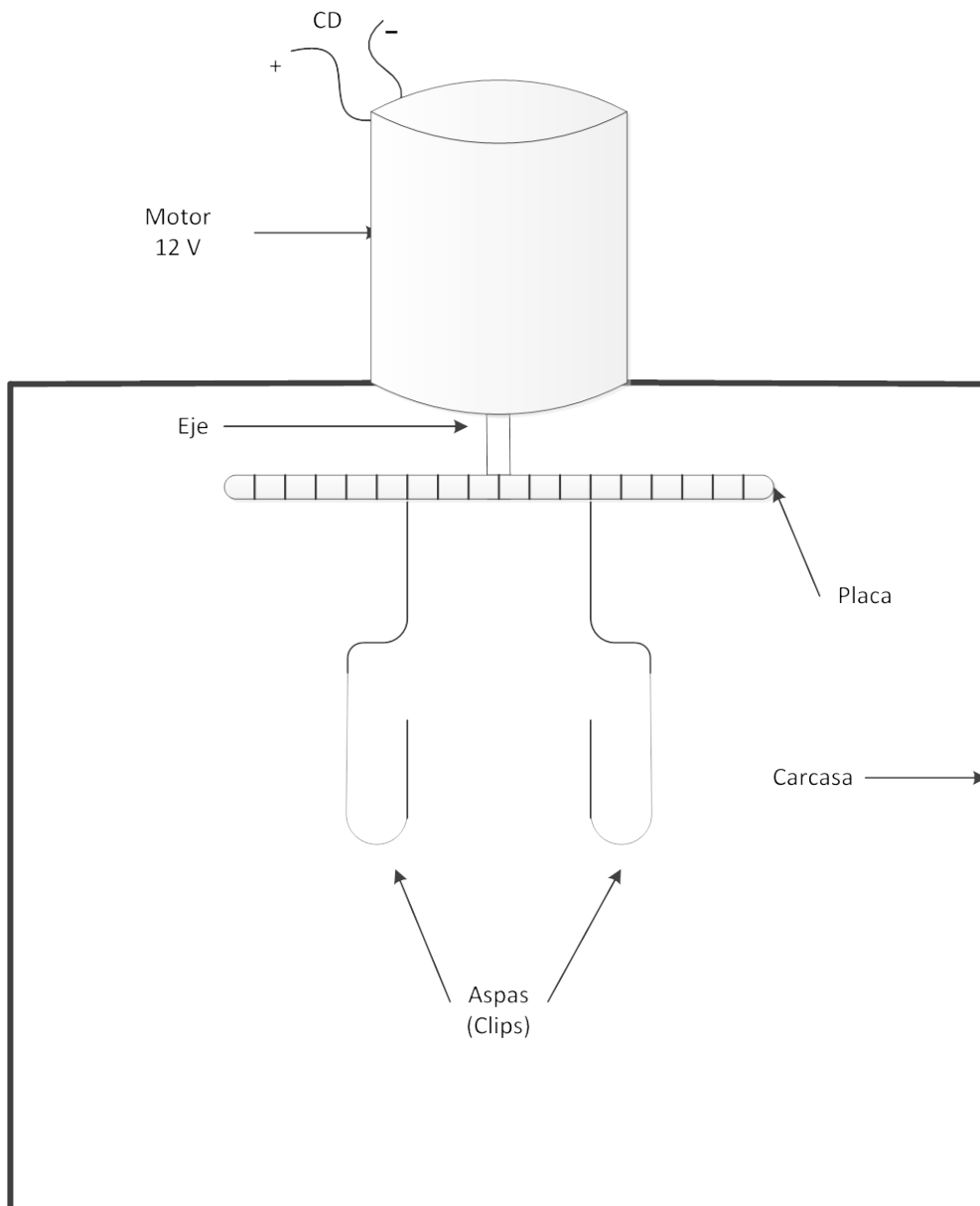


Gráfico 1. Diagrama de Mezcladora de material reciclado



Gráfico 2. Vista lateral de la Mezcladora de material reciclado



Gráfico 3. Vista de las aspas de la Mezcladora de material reciclado

ANEXO 3

Formulas, Datos y Resultados

Extracción del Colorante

La determinación cuantitativa del contenido del colorante se calculó usando la siguiente formula (Cai, 2005):

$$AC_a = \frac{Abs * (MW) * V_a * (DF) \times 10^2}{\epsilon * L * W_a}$$

Dónde:

AC_a = Extracto crudo acuoso

ϵ = Absorptividad molar, para Amarantina es $5.66 \times 10^4 \text{ cm}^{-1} \text{ mol}^{-1} \text{ L}$

MW = Peso molecular Constante de valor 726.6

Abs = Absorbancia a 537 nm

L = Distancia que recorre la luz UV/VIS a través de la cubeta

DF = Factor de Dilución

V_a = Volumen total del extracto

W_a = Peso de material vegetal

Cálculo:

$$AC_a = \frac{Abs * (MW) * V_a * (DF) \times 10^2}{\epsilon * L * W_a}$$

$$AC_a = \frac{2.014 * (726.6) * 25 \text{ ml} * (0.10) \times 10^2}{5.66 \times 10^4 \text{ cm}^{-1} \text{ mol}^{-1} \text{ L} * 1 \text{ cm} * 1 \text{ g}}$$

$$AC_a = 6.464 \text{ mg} / 100 \text{ g de peso fresco}$$

Resultados

	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3
Tratamientos	ACa (mg/100 g de m.v.)	ACa (mg/100 g de m.v.)	Aca (mg/100 g de m.v.)
T1	6.460	6.460	6.470
T2	6.480	6.480	6.470
T3	7.340	7.350	7.340
T4	7.650	7.660	7.680
T5	8.310	8.300	8.310
T6	8.310	8.320	8.330
T7	8.450	8.490	8.470
T8	8.550	8.560	8.530
T9	8.600	8.660	8.610
T10	8.730	8.720	8.720
T11	9.190	9.260	9.240
T12	9.260	9.260	9.270
T13	6.430	6.460	6.470
T14	6.740	6.740	6.740
T15	8.120	8.110	8.140
T16	8.570	8.560	8.580
T17	9.620	9.640	9.660
T18	9.760	9.720	9.750
T19	7.890	7.870	7.830
T20	7.980	7.990	7.990
T21	7.950	8.030	8.030
T22	8.070	8.160	8.140
T23	8.200	8.260	8.260
T24	8.320	8.410	8.380

Tabla 1. Resultados de la determinación cuantitativa del colorante

Estabilidad del Colorante

El porcentaje de pigmento retenido (%P.R.) se calculó de acuerdo a la siguiente ecuación (Cai, 1998):

$$\%P.R. = \left(\frac{C.P.T_x}{C.P.T_0} \right) * 100$$

Dónde:

%P.R. = Porcentaje de pigmento retenido

C.P.T_x = Contenido de pigmento en el tiempo “x” (mg/100g de peso de material vegetal)

C.P.T₀ = Contenido de pigmento en el tiempo cero (mg/100g de peso de material vegetal)

Cálculo:

$$\%P.R. = \left(\frac{C.P.T_x}{C.P.T_0} \right) * 100$$

$$\%P.R. = \left(\frac{7.026}{7.354} \right) * 100$$

$$\%P.R. = 95.54$$

Resultados

	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3
Tratamientos	% P.R.	% P.R.	% P.R.
T1	95.54	94.90	95.41
T2	96.11	95.98	96.11
T3	82.31	82.18	82.29
T4	71.71	72.05	71.76
T5	96.01	95.63	95.63
T6	99.48	99.61	99.74
T7	97.01	96.88	96.39
T8	84.41	84.51	84.36
T9	86.13	86.62	87.15
T10	98.44	97.79	98.05
T11	64.09	64.29	63.93
T12	81.48	81.01	81.10

Tabla 2. Resultados de la determinación cuantitativa del colorante

Nota: Los valores del contenido de pigmento en el tiempo “x” y tiempo 0, se obtuvieron empleando la fórmula empleada para la determinación cuantitativa del contenido del colorante.

Cálculo aproximado de las RPM del motor de la mezcladora

Se utilizó un vernier para medir el diámetro del eje del motor y los tiempos se midieron inicialmente en segundos.

Ensayo	Diámetro (m)	Tiempo (min)
1	0.0102	0.1112
2	0.0102	0.1110
3	0.0102	0.1112
4	0.0102	0.1110
5	0.0102	0.1112
6	0.0102	0.1112
Prom	0.0102	0.1111

Tabla 3. Datos para el cálculo aproximado de las RPM de la velocidad baja

Ensayo	Diámetro (m)	Tiempo (min)
1	0.0102	0.0788
2	0.0102	0.0788
3	0.0102	0.0787
4	0.0102	0.0788
5	0.0102	0.0787
6	0.0102	0.0787
Prom	0.0102	0.0788

Tabla 4. Datos para el cálculo aproximado de las RPM de la velocidad alta

Cálculo de la Velocidad

Fórmula

$$V = \frac{e}{t}$$

Dónde:

V = velocidad (m/min)

t = tiempo (min)

e = espacio (m)

Cálculo

$$V = \frac{e}{t}$$

$$V = \frac{1 \text{ m}}{0.111 \text{ min}}$$

$$V = 9 \text{ m/min}$$

Cálculo de la Longitud de la Circunferencia

Fórmula

$$L = D * \pi$$

Dónde:

L = longitud de la circunferencia (m)

D = diámetro (m)

π = pi

Cálculo

$$L = D * \pi$$
$$L = 0.0102 * \pi$$
$$L = 0.0320 \text{ m}$$

Cálculo aproximado de la RPM

Fórmula

$$rpm = \frac{V}{L}$$

Dónde:

V = velocidad (m/min)

L = longitud de la circunferencia (m)

Cálculo

$$rpm = \frac{V}{L}$$
$$rpm = \frac{9 \text{ m/min}}{0.0320 \text{ m}}$$
$$rpm = 281$$

Velocidad	RPM
1	281
2	396

Tabla 5. Resultados

ANEXO 4

Análisis estadístico para la Extracción del Colorante

Análisis de Varianza

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Concentración	72	1.00	1.00	0.27

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	59.42	25	2.38	4852.41	<0.0001
Replicas	0.01	2	2.8E-03	5.76	0.0058
Relación MV:Solvente	17.29	3	5.76	11764.35	<0.0001
Tiempo de Agitación	27.53	2	13.77	28104.56	<0.0001
Velocidad	0.39	1	0.39	802.80	<0.0001
Relación MV:Solvente*Tieimp..	13.91	6	2.32	4732.65	<0.0001
Relación MV:Solvente*Veloc..	0.11	3	0.04	75.63	<0.0001
Tiempo de Agitación*Veloci..	0.10	2	0.05	98.69	<0.0001
Relación MV:Solvente*Tieimp..	0.09	6	0.01	28.93	<0.0001
Error	0.02	46	4.9E-04		
Total	59.44	71			

Tabla 1. Análisis de varianza

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.01547

Error: 0.0005 gl: 46

Replicas	Medias	n	E.E.	
1	8.12	24	4.5E-03	A
3	8.14	24	4.5E-03	B
2	8.14	24	4.5E-03	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Tabla 2. Prueba de Tukey para las Réplicas

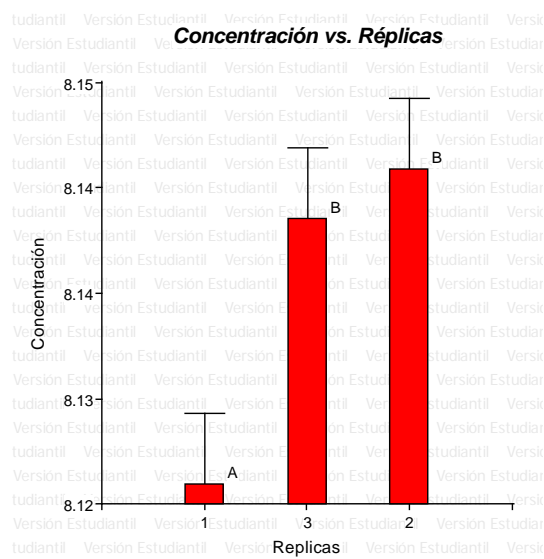


Gráfico 1. Concentración vs. Réplicas

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.01966

Error: 0.0005 gl: 46

Relación MV:Solvente	Medias	n	E.E.	
1:25	7.43	18	0.01	A
1:100	8.10	18	0.01	B
1:75	8.21	18	0.01	C
1:50	8.81	18	0.01	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Tabla 3. Prueba de Tukey para el factor Relación mv: volumen de solvente

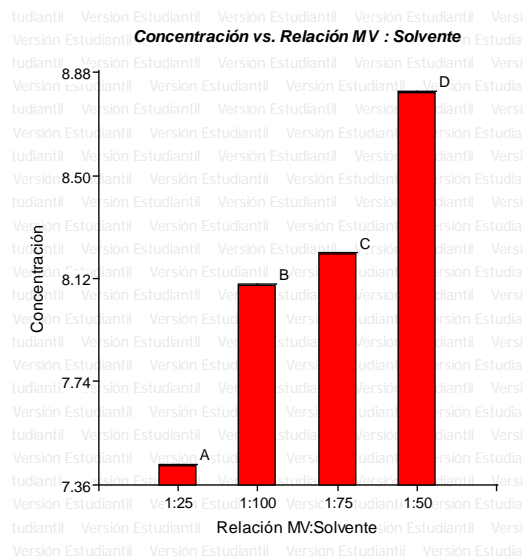


Gráfico 2. Concentración vs. Relación mv: volumen de solvente

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.01547

Error: 0.0005 gl: 46

Tiempo de Agitación	Medias	n	E.E.	
20.00	7.37	24	4.5E-03	A
40.00	8.15	24	4.5E-03	B
60.00	8.89	24	4.5E-03	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Tabla 4. Prueba de Tukey para el factor Tiempo de mezcla

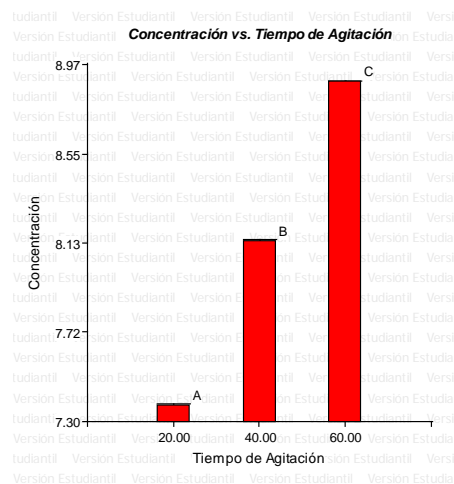


Gráfico 3. Concentración vs. Tiempo de mezcla

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.01050

Error: 0.0005 gl: 46

Velocidad	Medias	n	E.E.	
1	8.06	36	3.7E-03	A
2	8.21	36	3.7E-03	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Tabla 5. Prueba de Tukey para el factor Velocidad

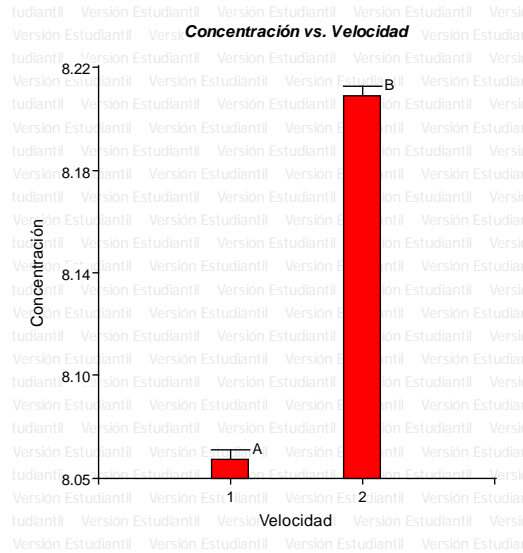


Gráfico 4. Concentración vs. Velocidad

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.04397

Error: 0.0005 gl: 46

Relación MV:Solvente	Tiempo de Agitación	Medias	n	E.E.	
1:25	20.00	6.47	6	0.01	A
1:75	20.00	6.59	6	0.01	B
1:25	40.00	7.50	6	0.01	C
1:100	20.00	7.92	6	0.01	D
1:100	40.00	8.07	6	0.01	E
1:100	60.00	8.30	6	0.01	F
1:25	60.00	8.31	6	0.01	F
1:75	40.00	8.35	6	0.01	F
1:50	20.00	8.51	6	0.01	G
1:50	40.00	8.67	6	0.01	H
1:50	60.00	9.25	6	0.01	I
1:75	60.00	9.69	6	0.01	J

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Tabla 6. Prueba de Tukey para la interacción doble de los factores relación mv: volumen de solvente y tiempo de mezcla

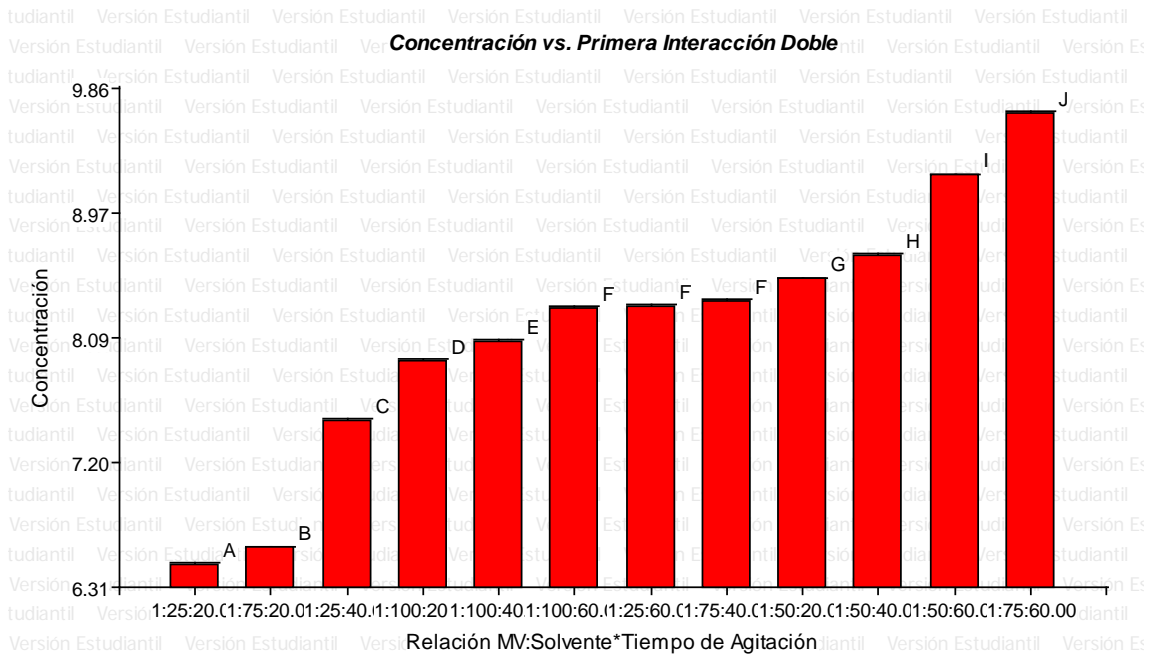


Gráfico 5. Concentración vs. Interacción doble de los factores relación mv: volumen de solvente y tiempo de mezcla

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.03312

Error: 0.0005 gl: 46

Relación MV:Solvente	Velocidad	Medias	n	E.E.	
1:25	1	7.37	9	0.01	A
1:25	2	7.49	9	0.01	B
1:100	1	8.04	9	0.01	C
1:75	1	8.07	9	0.01	D
1:100	2	8.16	9	0.01	E
1:75	2	8.35	9	0.01	F
1:50	1	8.77	9	0.01	G
1:50	2	8.85	9	0.01	H

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Tabla 7. Prueba de Tukey para la interacción doble de los factores relación mv: volumen de solvente y velocidad

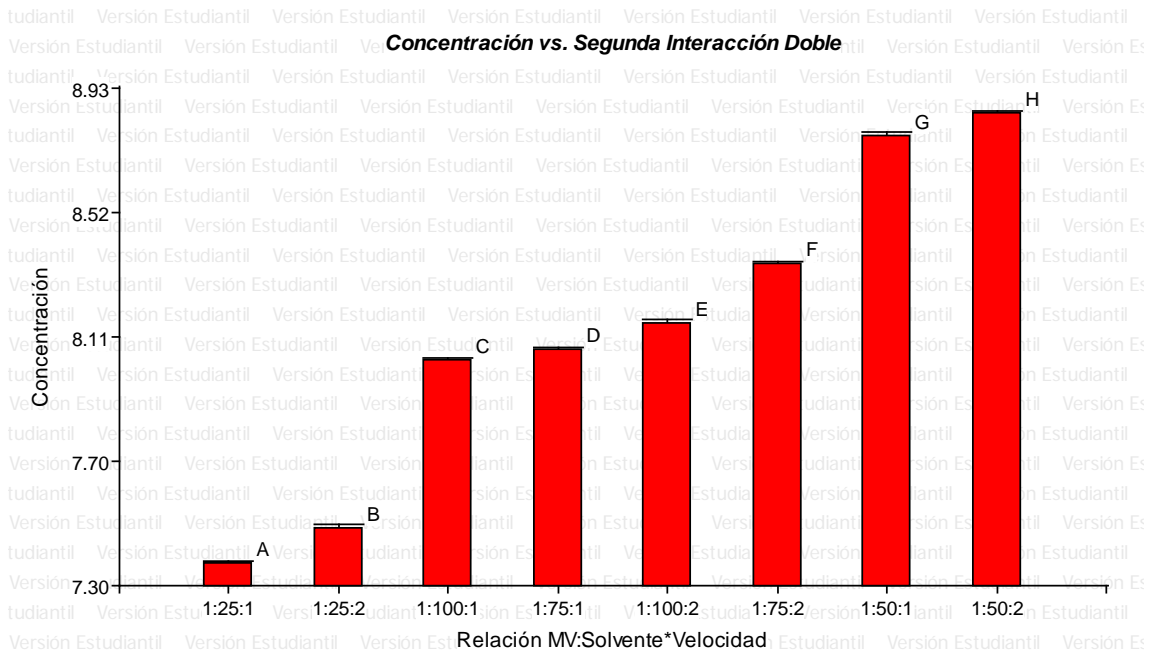


Gráfico 6. Concentración vs. Interacción doble de los factores relación mv: solvente y velocidad

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.02686

Error: 0.0005 gl: 46

Tiempo de Agitación	Velocidad	Medias	n	E.E.	
20.00	1	7.31	12	0.01	A
20.00	2	7.44	12	0.01	B
40.00	1	8.02	12	0.01	C
40.00	2	8.27	12	0.01	D
60.00	1	8.85	12	0.01	E
60.00	2	8.92	12	0.01	F

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Tabla 8. Prueba de Tukey para la interacción doble de los factores tiempo de mezcla y velocidad

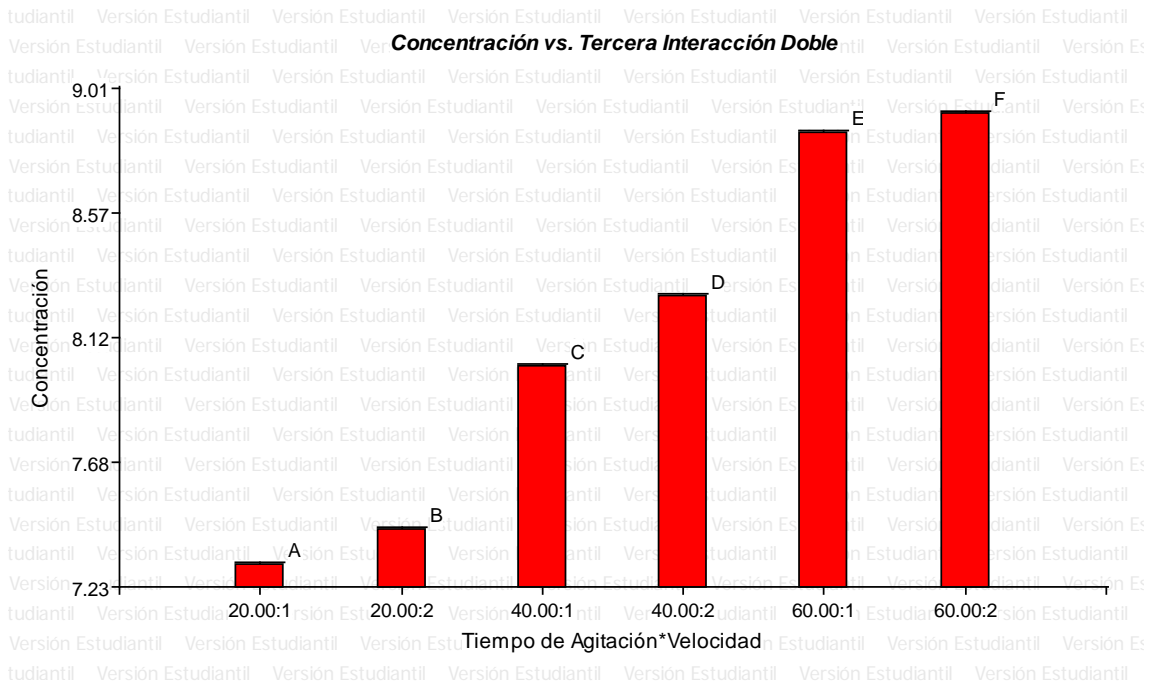


Gráfico 7. Concentración vs. Interacción doble de los factores tiempo de mezcla y velocidad

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.06983
Error: 0.0005 gl: 46

Relación MV: Solvente	Tiempo de Agitación	Velocidad	Medias	n	E.E.	Letra
1:75	20.00	1	6.45	3	0.01	A
1:25	20.00	1	6.46	3	0.01	A
1:25	20.00	2	6.48	3	0.01	A
1:75	20.00	2	6.74	3	0.01	B
1:25	40.00	1	7.34	3	0.01	C
1:25	40.00	2	7.66	3	0.01	D
1:100	20.00	1	7.86	3	0.01	E
1:100	20.00	2	7.98	3	0.01	F
1:100	40.00	1	8.00	3	0.01	F
1:75	40.00	1	8.12	3	0.01	G
1:100	40.00	2	8.13	3	0.01	G
1:100	60.00	1	8.24	3	0.01	H
1:25	60.00	1	8.30	3	0.01	H
1:25	60.00	2	8.32	3	0.01	I
1:100	60.00	2	8.37	3	0.01	I
1:50	20.00	1	8.47	3	0.01	J
1:50	20.00	2	8.55	3	0.01	K
1:75	40.00	2	8.57	3	0.01	K
1:50	40.00	1	8.62	3	0.01	L
1:50	40.00	2	8.72	3	0.01	L
1:50	60.00	1	9.23	3	0.01	M
1:50	60.00	2	9.26	3	0.01	N
1:75	60.00	1	9.64	3	0.01	N
1:75	60.00	2	9.75	3	0.01	O
						P

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Tabla 9. Prueba de Tukey para la interacción triple de los factores relación mv: volumen de solvente, tiempo de mezcla y velocidad

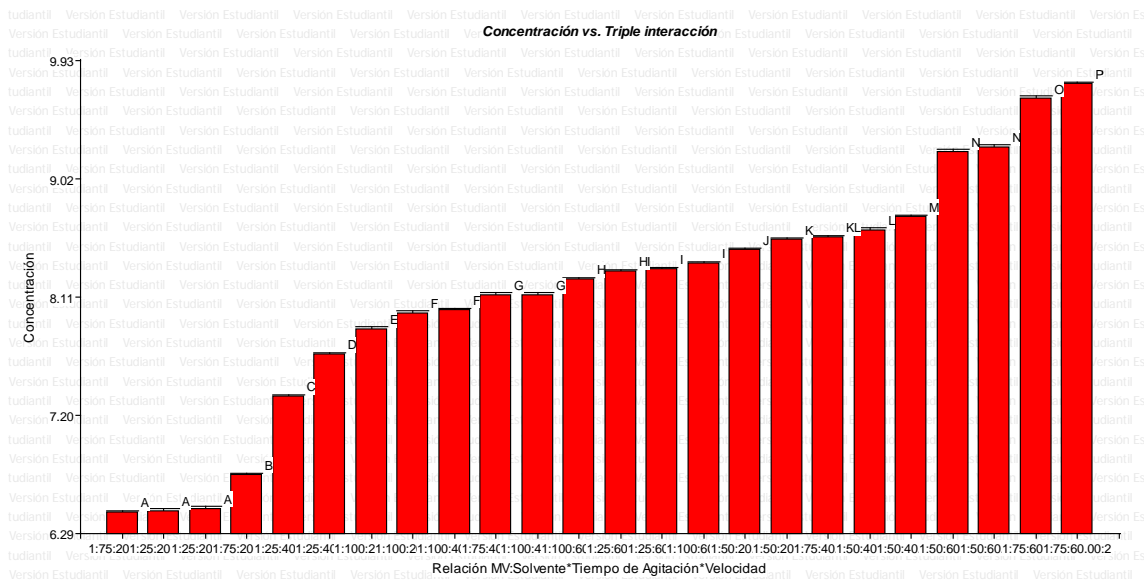


Gráfico 8. Concentración vs. Interacción triple de los factores

ANEXO 5

Análisis estadístico para las pruebas de Estabilidad del Colorante

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
% P.R.	36	1.00	1.00	0.30

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	4249.39	13	326.88	4705.67	<0.0001
Réplicas	0.07	2	0.03	0.49	0.6164
pH	842.51	2	421.25	6064.31	<0.0001
Temperatura	2063.73	1	2063.73	29709.23	<0.0001
Luz	27.23	1	27.23	392.01	<0.0001
pH*Temperatura	293.59	2	146.79	2113.24	<0.0001
pH*Luz	707.82	2	353.91	5094.84	<0.0001
Temperatura*Luz	118.34	1	118.34	1703.58	<0.0001
pH*Temperatura*Luz	196.10	2	98.05	1411.55	<0.0001
Error	1.53	22	0.07		
Total	4250.92	35			

Tabla 1. Análisis de Varianza

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.27029

Error: 0.0695 gl: 22

Réplicas	Medias	n	E.E.	
2	87.62	12	0.08	A
3	87.66	12	0.08	A
1	87.73	12	0.08	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Tabla 2. Prueba de Tukey para las réplicas

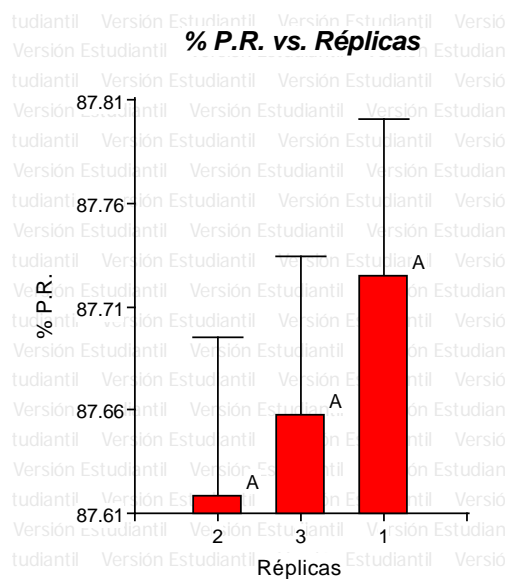


Gráfico 1. % P.R. vs. Réplicas

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.27029

Error: 0.0695 gl: 22

pH	Medias	n	E.E.	
6	82.51	12	0.08	A
4	86.36	12	0.08	B
5	94.14	12	0.08	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Tabla 3. Prueba de Tukey para el factor pH

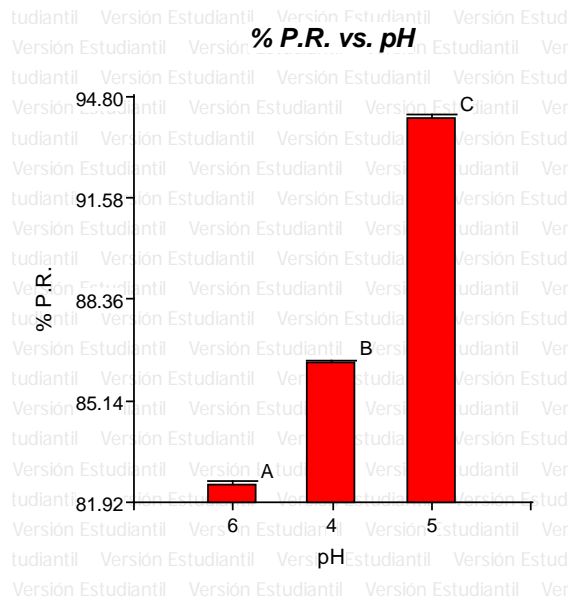


Gráfico 2. % P.R. vs. pH

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.18220

Error: 0.0695 gl: 22

Temperatura	Medias	n	E.E.	
Ambiental	80.10	18	0.06	A
Refrigeración	95.24	18	0.06	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Tabla 4. Prueba de Tukey para el factor Temperatura

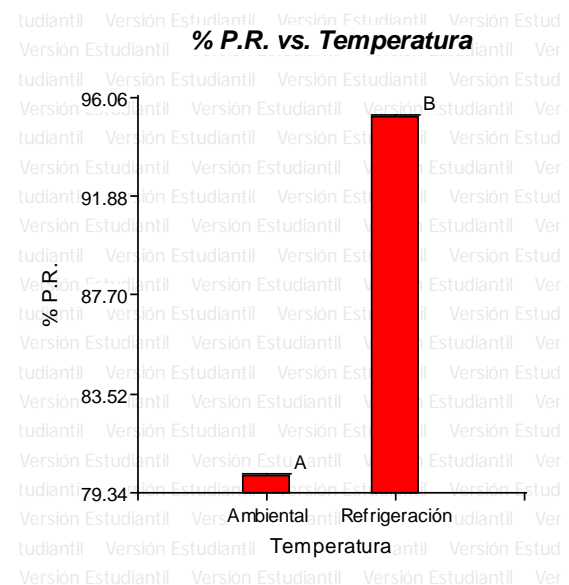


Gráfico 3. % P.R. vs. Temperatura

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.18220

Error: 0.0695 gl: 22

Luz	Medias	n	E.E.	
Oscuridad	86.80	18	0.06	A
Luz Ambiental	88.54	18	0.06	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Tabla 5. Prueba de Tukey para el factor Luz

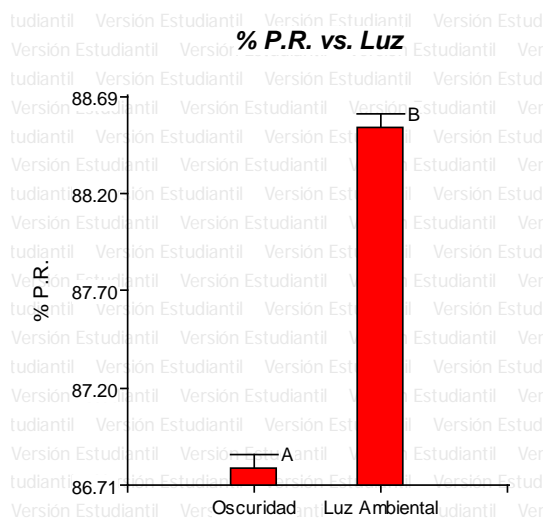


Gráfico 4. % P.R. vs. Luz

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.47402

Error: 0.0695 gl: 22

pH	Temperatura	Medias	n	E.E.	
6	Ambiental	72.65	6	0.11	A
4	Ambiental	77.05	6	0.11	B
5	Ambiental	90.59	6	0.11	C
6	Refrigeración	92.36	6	0.11	D
4	Refrigeración	95.68	6	0.11	E
5	Refrigeración	97.68	6	0.11	F

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Tabla 6. Prueba de Tukey para la interacción doble de los factores pH y Temperatura

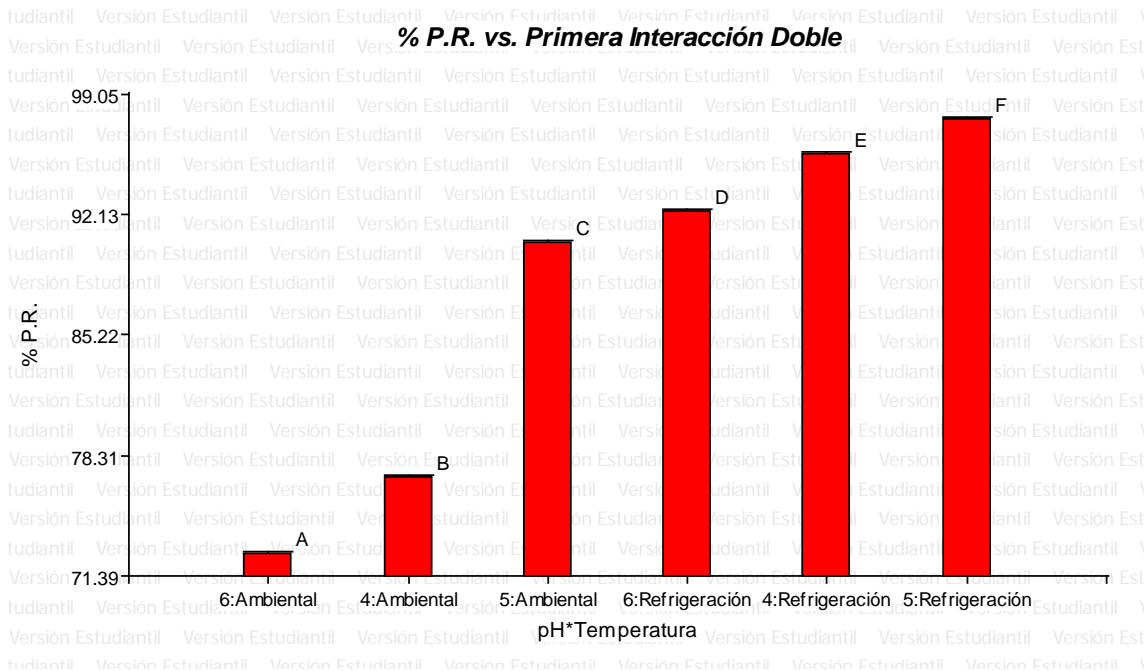


Gráfico 5. % P.R. vs. Interacción doble de los factores pH y Temperatura

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.47402

Error: 0.0695 gl: 22

pH	Luz	Medias	n	E.E.	
6	Oscuridad	75.37	6	0.11	A
4	Luz Ambiental	83.95	6	0.11	B
4	Oscuridad	88.77	6	0.11	C
6	Luz Ambiental	89.65	6	0.11	D
5	Luz Ambiental	92.02	6	0.11	E
5	Oscuridad	96.26	6	0.11	F

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Tabla 7. Prueba de Tukey para la interacción doble de los factores pH y Luz

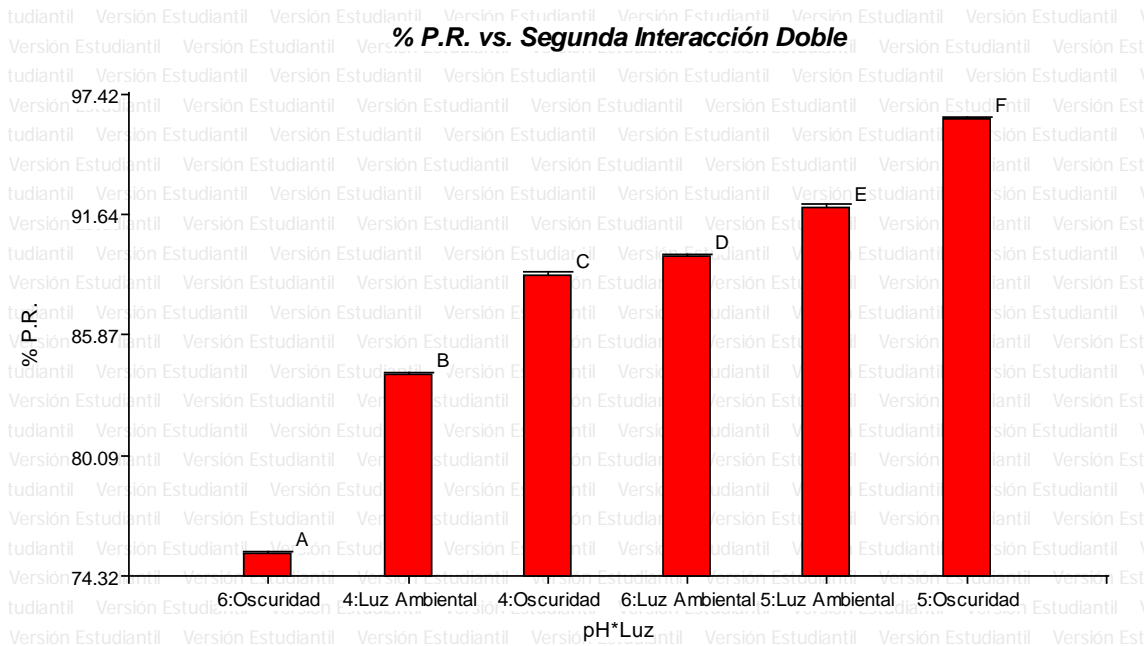


Gráfico 6. % P.R. vs. Interacción doble de los factores pH y Luz

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.34500

Error: 0.0695 gl: 22

Temperatura	Luz	Medias	n	E.E.	
Ambiental	Luz Ambiental	79.15	9	0.09	A
Ambiental	Oscuridad	81.04	9	0.09	B
Refrigeración	Oscuridad	92.56	9	0.09	C
Refrigeración	Luz Ambiental	97.92	9	0.09	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Tabla 8. Prueba de Tukey para la interacción doble de los factores Temperatura y Luz

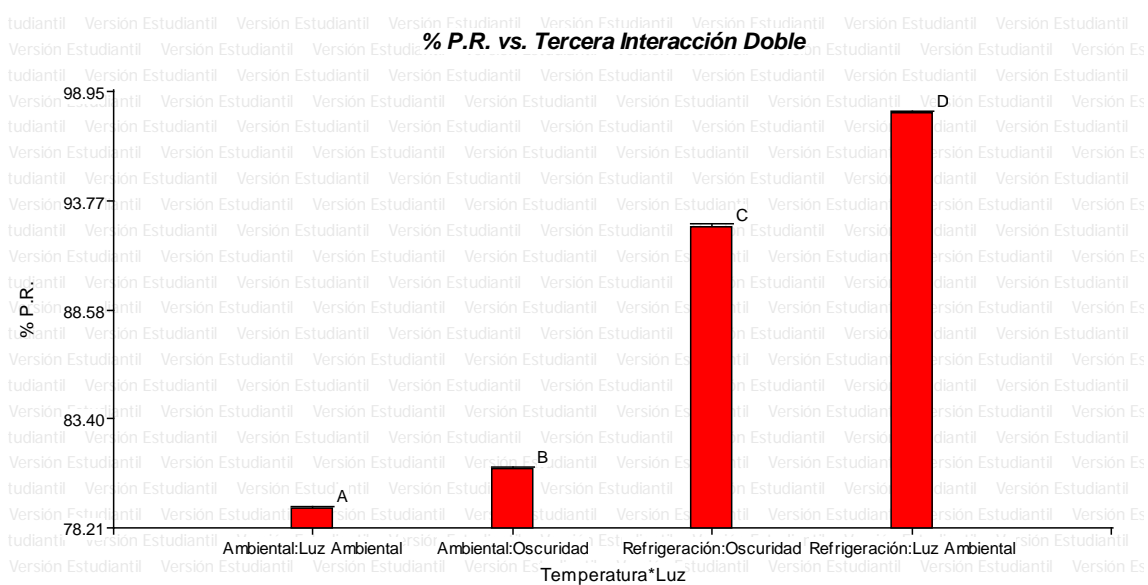


Gráfico 7. % P.R. vs. Interacción doble de los factores Temperatura y Luz

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.78280

Error: 0.0695 gl: 22

pH	Temperatura	Luz	Medias	n	E.E.	
6	Ambiental	Oscuridad	64.10	3	0.15	A
4	Ambiental	Luz Ambiental	71.84	3	0.15	B
6	Ambiental	Luz Ambiental	81.20	3	0.15	C
4	Ambiental	Oscuridad	82.26	3	0.15	D
5	Ambiental	Luz Ambiental	84.43	3	0.15	E
6	Refrigeración	Oscuridad	86.63	3	0.15	F
4	Refrigeración	Oscuridad	95.28	3	0.15	G
5	Refrigeración	Oscuridad	95.76	3	0.15	G H
4	Refrigeración	Luz Ambiental	96.07	3	0.15	H I
5	Ambiental	Oscuridad	96.76	3	0.15	I
6	Refrigeración	Luz Ambiental	98.09	3	0.15	J
5	Refrigeración	Luz Ambiental	99.61	3	0.15	K

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Tabla 9. Prueba de Tukey para la interacción tripe de los factores

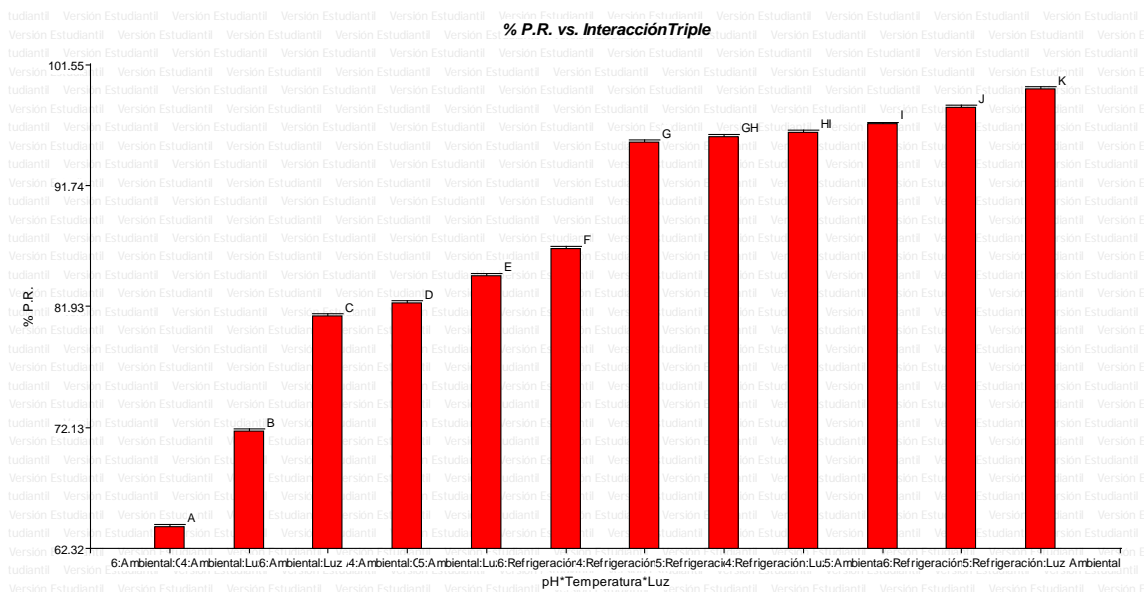


Gráfico 8. % P.R. vs. Interacción triple de los factores

ANEXO 6

Evaluación organoléptica de caramelos sabor a mora elaborados usando el colorante obtenido de Ataco o Sangorache

Hoja de Evaluación para el análisis sensorial y aceptabilidad de caramelos sabor a mora elaborados usando el colorante obtenido de Ataco o Sangorache

Universidad Técnica de Ambato

Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos

Carrera de Ingeniería Bioquímica

Caramelos Sabor a Mora elaborados usando el colorante obtenido de Ataco o Sangorache

Fecha:.....

Instrucciones:

Pruebe por favor las muestras entregadas, en el orden que se le solicite, marque con una X según su parecer, una de las alternativas de cada una de las características

Características	Alternativas	Muestras		
OLOR	Agrada mucho			
	Agrada			
	Ni agrada ni desagrada			
	Desgrada			
	Desgrada mucho			
COLOR	Agrada mucho			
	Agrada			
	Ni agrada ni desagrada			
	Desgrada			
	Desgrada mucho			
SABOR	Agrada mucho			
	Agrada			
	Ni agrada ni desagrada			
	Desgrada			
	Desgrada mucho			

