

EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DEL PIGMENTO NATURAL OBTENIDO A PARTIR DE MORTIÑO (*Vaccinium mytillus L*) COMO COLORANTE PARA LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS

EVALUATION OF THE STABILITY OF NATURAL PIGMENT OBTAINED FROM MORTIOUS (*Vaccinium mytillus L*) AS A DYEING FOR THE FOOD INDUSTRY

(Entregado 21/09/2015-Revisado 11/02/2017)

FREDDY GIOVANNY TORRES MAYANQUER

Magister en Procesamiento de Alimentos, Diploma Superior en Currículo por Competencias, Ingeniero Agroindustrial, Docente Titular Agregado en la Facultad de Industrias Agropecuarias y Ciencias Ambientales (UPEC), Coordinador de Carrera de Alimentos.

NELLY LORENA PULGAR OLEAS

Magister en Procesamiento de los alimentos, Magister en gestión académica Universitaria, Diplomado Superior en Docencia Universitaria, Doctorado en química, Docente Universidad Agraria del Ecuador (UAE), Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL), Tutora de Tesis de Maestrías, Ingeniería y Tecnologías.

Universidad Politécnica Estatal del Carchi (UPEC) –Ecuador
Universidad Agraria del Ecuador (UAE) - Ecuador
freddy.torres@upec.edu.ec

Resumen

El objetivo de esta Tesis fue extraer pigmento del mortiño y evaluar su estabilidad como colorante en la industria alimentaria. Aplicamos extracción sólido-líquido, se empleó como solvente etanol a 96° con una concentración de ácido cítrico en relación peso / volumen del 0.03%. Obtenido el pigmento estudiamos su estabilidad a la influencia de temperatura (4, 14, 68°C), pH (4, 5, 6), ambientes de almacenamiento (luz, oscuridad), esto durante cuatro semanas. De la evaluación determinamos que las variables influenciaron significativamente al pigmento, la degradación de las antocianinas aumentó con el incremento de temperatura, manteniéndose estable a bajas temperaturas, respecto al pH, el efecto fue contrario, a menor pH, es más estable y a pH superior se decolora, la exposición a la luz afecta la estabilidad, siendo más estable a condiciones de oscuridad. Ante esto y con el fin de utilizarlo como colorante para la industria alimentaria, debemos considerar su aplicación en alimentos procesados que mantienen condiciones óptimas de estabilidad, para que la degradación de estos pigmentos sea lo más baja posible; pH ácidos, temperaturas bajas de almacenamiento y protegidos de la luz.

Palabras Claves: *antocianinas, colorante, extracción, mortiño.*

Abstract

The objective of this thesis was to extract and evaluate blue berry pigment and dye stability in the food industry. Apply solid-liquid extraction using ethanol as solvent at 96 ° with a citric acid concentration in weight / volume ratio of 0.03%. Retrieved pigment stability study of the influence of temperature (4, 14, 68), pH (4, 5, 6) storage environments (light, dark), this for four weeks. Evaluation determined that the variables significantly influenced the pigment degradation anthocyanins increased with increasing temperature, remaining stable at low temperatures, compared to pH, the effect was not, at lower pH, it is more stable and higher pH is discolor, exposure to light affects the stability, being stable under dark conditions. At this and to use as a colorant for food industry, must consider its application to processed foods that maintain optimum stability, so that degradation of these pigments is as low as possible; acidic pH, low storage and temperature protected from light.

Keywords: anthocyanins, dye, extraction, blue berry.

1. Introducción

Debido a la importancia del aspecto de los alimentos es por lo que los colorantes alimentarios tienen un papel tan relevante entre los aditivos alimentarios. Muchas veces se emplean para resaltar el color natural de los alimentos y otras para devolver el color perdido en las manipulaciones para su conservación. (Sánchez, 2013)

El uso de colorantes, en alimentación, se remonta a tiempos inmemoriales. Las razones de su uso continuado, a lo largo de la historia, obedecen, en buena medida, al potencial de tinción observado en productos naturales que se han añadido a los alimentos con el fin de hacer más apetecible su apariencia sin causar efectos adversos para la salud. (Rodríguez, 2002)

Los consumidores son cada vez más exigentes y demandan productos de origen natural y de etiqueta limpia. Es por eso que los productores y distribuidores están buscando eliminar gradualmente los ingredientes sintéticos. El desafío es encontrar reemplazantes naturales que mantengan las características organolépticas de los alimentos intactas y favorezcan su preservación. (Alimentarnos.com, 2014)

2. Materiales y métodos

Materiales y Equipos

- Fruta de Mortiño
- pHmetro HANNA
- Refractómetro manual: 0 - 32°Brix y 58 – 92°Brix
- Balanza gramera Boeco Max 310g – Min 0.01g
- Balanza analítica Citizen Max 310g – Min 10mg
- Estufa Ecocell
- Rotavaporador IKA RV10
- Espectrofotómetro UV-Visible Lovibond

- Liofilizador LABCONCO 4.5
- Refrigerador
- Baño maría
- Probetas 250ml
- Papel filtro, aluminio
- Embudos
- Alcoholímetro
- Pipetas 10ml
- Vasos de precipitación 100, 250, 1000ml
- Matraces redondos aforados 500ml

Reactivos y soluciones

- Etanol 96°
- Ácido cítrico
- Agua destilada

MÉTODOS

Método hipotético-deductivo

Para la presente investigación aplicamos el método hipotético-deductivo (o de contrastación de hipótesis) ya que nos permitió establecer la veracidad o nulidad de las hipótesis planteadas, para esto, fue necesario comprobar a través de la práctica experimental.

Modalidad y tipo de investigación

Este proyecto de tesis se encuentra dentro de la modalidad de investigación cuantitativa, como la palabra lo indica, tiene que ver con la cantidad y, por tanto, su medio principal es la medición y el cálculo. En general, busca medir variables con referencia a magnitudes. (Niño, 2011)

Las modalidades de investigación que intervinieron en la elaboración de esta tesis fueron:

- **Bibliográfica:** Para lo cual se recolectó la mayor cantidad de información de libros, revistas, artículos científicos, investigaciones anteriores referentes al tema que permitieron sustentar la temática a investigar.
- **Aplicada:** Debido a que se utilizó formulaciones planteadas en algunos textos referentes al proceso de extracción de colorante antocianico a partir de fruta liofilizada, las mismas que sirvieron de referencia para que sean aplicadas en la evaluación de la estabilidad del pigmento natural obtenido a partir de mortiño (*Vaccinium mytillus L*) como colorante para la industria de alimentos, se optimizó recursos existentes en la zona, y a la vez brindando nuevas alternativas comerciales.
- **Experimental:** su propósito es validar o comprobar una hipótesis. (Niño, 2011). La experimentación tuvo lugar en el laboratorio y nos permitió comprobar la estabilidad del pigmento a la influencia de las variables establecidas, en condiciones controladas y conocidas, para observar el efecto que las variables producen.

Estadística inferencial

Se estableció un diseño experimental completamente al azar (DCA), con arreglo factorial ($A \times B \times C$). Este diseño es muy empleado, en el caso de experimentación a nivel de laboratorio, en donde las condiciones ambientales y resto de variables pueden ser controladas. (Padrón, 2009) Para esta investigación los tratamientos a ser aplicados a nivel experimental se observan en la Tabla 1.

TABLA N. 1
TRATAMIENTOS DEL DISEÑO EXPERIMENTAL

TRATAMIENTOS	CÓDIGO	TRATAMIENTOS	CÓDIGO
T 1	$A_1B_1C_1$	T 10	$A_2B_2C_2$
T 2	$A_1B_1C_2$	T 11	$A_2B_3C_1$
T 3	$A_1B_2C_1$	T 12	$A_2B_3C_2$
T 4	$A_1B_2C_2$	T 13	$A_3B_1C_1$
T 5	$A_1B_3C_1$	T 14	$A_3B_1C_2$
T 6	$A_1B_3C_2$	T 15	$A_3B_2C_1$
T 7	$A_2B_1C_1$	T 16	$A_3B_2C_2$
T 8	$A_2B_1C_2$	T 17	$A_3B_3C_1$
T 9	$A_2B_2C_1$	T 18	$A_3B_3C_2$

Elaborado por: Torres Freddy, 2015

Donde:

A_1, A_2, A_3 = Temperaturas ($A_1= 4^\circ\text{C}$; $A_2= 14^\circ\text{C}$; $A_3= 68^\circ\text{C}$).

B_1, B_2, B_3 = pH ($B_1=4$; $B_2=5$; $B_3=6$).

C_1, C_2 = Luz ($C_1=$ luz; $C_2 =$ oscuridad).

Otras características del ensayo son:

- Número de repeticiones por tratamiento: 3
- Número de tratamientos: 18
- Número de unidades experimentales: 54

El esquema del análisis estadístico se puede apreciar en la Tabla 2.

TABLA N. 2
ESQUEMA DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO

FUENTES DE VARIACIÓN (FV)	GRADOS DE LIBERTAD (GL)
TOTAL	71
FACTOR A (Temperaturas)	2
FACTOR B (pH)	2
FACTOR C (Ambiente)	1
INTERACCIÓN AB	4
INTERACCIÓN AC	2
INTERACCIÓN BC	2
INTERACCIÓN ABC	4
SEMANAS	3
ERROR EXPERIMENTAL	51

Elaborado por: Torres Freddy, 2015

Para la comparación de los promedios se empleará la prueba de TUKEY al 5% de probabilidad.

Población y Muestra

La materia prima básica (mortiño proveniente de los páramos de la zona) que fue en primera instancia caracterizada, para de esta manera, evaluar su potencial como sustrato, fue recolectado en las zonas donde crece la especie. La población considerada para esta investigación estuvo conformada por las 54 unidades experimentales y la muestra en sí serán todas las unidades ya mencionadas.

Caracterización del pigmento.

El análisis de pigmentos y su propiedad física directa, el color, puede efectuarse por métodos físicos o químicos. Químicamente implica la extracción de los compuestos pigmentantes mediante solubilización en disolventes polares o no polares, según su estructura. Después se identifica mediante un barrido espectral con el que se obtienen las longitudes de onda en las que hay una absorbancia máxima. (Guerrero, López, & Armenta, Química de los Alimentos, 2006)

Se han descrito numerosos métodos para la determinación de antocianinas cuantitativamente en los alimentos, el análisis total de antocianinas, en el producto fresco, es relativamente sencillo. Sólo requiere la maceración de la muestra en metanol o etanol ácido, una alícuota de la solución y la absorción máxima en la región visible del espectro electromagnético. El total de antocianinas puede determinarse en extractos crudos que contienen compuestos fenólicos, lo que se logra midiendo la absorbancia a una longitud de onda. Esto es posible porque las antocianinas tienen un máximo de absorción en la región de 510-550 nm y el grupo de compuestos con mayores valores de absorción y cercanos a este rango, son los flavonoides con rangos de absorción en la región de 350-380 nm. (Fuleki & Francis, 1968).

Estabilidad del Colorante.

Con el fin de evaluar la estabilidad del colorante se llevó a cabo un monitoreo durante cuatro semanas, se realizó análisis espectrofotométrico, una vez por semana, para determinar el porcentaje de pigmento retenido en los tratamientos sometidos a las condiciones planteadas en la investigación. El procedimiento para evaluar la estabilidad del colorante natural se detalla a continuación.

- Temperatura: se probaron tres temperaturas (4 °C, 14 °C y 68 °C), estas fueron seleccionadas debido a que la mayoría de los alimentos son almacenados a estas temperaturas o en caso de ser sometidos algún tratamiento térmico se puede alcanzar temperaturas de 68°C.
- Para la temperatura de 4°C se usó un refrigerador, los 14°C correspondieron a las muestras a temperatura ambiente y para la de 68°C se empleó una estufa.
- pH: se probaron tres valores de pH (4, 5, 6) debido a que la mayoría de los alimentos que se consumen oscilan en estos valores.
- Luz: las muestras se mantuvieron en dos ambientes; oscuridad (cubiertos con papel aluminio) y expuestas a la luz (sin protección).

Determinación Espectrofotométrica.

Con el fin de determinar el porcentaje de pigmento retenido en los tratamientos, se llevó a cabo un monitoreo durante cuatro semanas, tiempo en el cual se realizó lecturas espectrofotométricas a los tratamientos una vez por semana.

Para esto se empleó un Espectrofotómetro UV-Visible Lovibond, el procedimiento aplicado fue el siguiente:

1. Se ingresa la longitud de onda en el campo de medición entre 330 y 900 nm.
2. Colocar la cubeta con el ensayo en blanco en el compartimiento de medición, realizar la lectura.
3. Retirar el ensayo en blanco, y colocar en el compartimiento de medición una cubeta con el test llena, realizar la lectura.
4. En la pantalla aparecen los resultados como Extinción (en Abs) y Transmisión (en %), registrar los datos.

3. Resultados y discusión

RESULTADOS

EXTRACCIÓN DEL COLORANTE A PARTIR DE MORTIÑO

La extracción del pigmento se lo realizó en base a la metodología establecida por (Menéndez, 2008), en la que sugiere emplear como solvente etanol-ácido cítrico en relación peso / volumen del 0.03%, debido a que estas proporcionaron mayor concentración de antocianinas por extracto.

El método de extracción seleccionado para la obtención del pigmento de mortiño fue aquel en el cual se liofilizó la fruta, debido a que reduce un 30% el tiempo de extracción de la porción alcohólica en un rotovaporador. La pureza del alcohol fue otro punto importante debido a que influye en la concentración final del extracto, por esta razón empleamos etanol de 96°.

CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DEL PIGMENTO NATURAL OBTENIDO A PARTIR DE MORTIÑO

A continuación se describen los resultados obtenidos en la caracterización del extracto de pigmento obtenido a partir del mortiño.

TABLA N. 3

RESULTADO DE LA CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DEL PIGMENTO

Parámetro	Resultado
pH	1.91
°Brix	80
Absorbancia	516 nm

Elaborado por: Torres Freddy, 2015

EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DEL PIGMENTO NATURAL OBTENIDO A PARTIR DEL MORTIÑO
(Vaccinium mytillus) COMO COLORANTE PARA LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS

El pigmento obtenido del proceso de extracción presentó un pH de 1.91, un contenido en sólidos soluble expresados en Grados Brix de 80, debido al proceso de concentración en el cuál se eliminó el agua que contenía el extracto, además se realizó un barrido entre 330 y 900 nm en la que se obtuvo un máximo de absorción de 516 nm, se determinó que son antocianinas del tipo de las cianidinas que tienen un rango máximo de absorción de 516 a 520 nm.

ESTABILIDAD DEL PIGMENTO NATURAL EXTRAÍDO A PARTIR DE MORTIÑO A DIFERENTES CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

La estabilidad del pigmento se realizó a diferentes pH (4, 5, 6); temperatura (4, 14, 68°C) y ambientes de almacenamiento (expuesto a la luz y en oscuridad), durante un periodo de cuatro semanas, se hizo el seguimiento cada semana y la lectura, por medio del espectrofotómetro, para determinar cuál tratamiento presentó mayor estabilidad.

Con los resultados obtenidos de las condiciones a los que fueron sometidos los extractos de pigmento del mortiño se realizó el análisis estadístico del cual se obtuvo los siguientes resultados.

TABLA N. 4

ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE RETENCIÓN DEL EXTRACTO DE MORTIÑO A DIFERENTES CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

F.V.	SC	gl	CM	F
Total	29424,49	71		
Exposición	586,84	1	586,84	7,42
pH	4464,78	2	2232,39	28,23
T°	4392,7	2	2196,35	27,78
pH*T°	735,67	4	183,92	2,33
Exposición*T°	52,43	2	26,21	0,33
Exposición*pH	170,24	2	85,12	1,08
Exposición*pH*T°	122,02	4	30,5	0,39
Semana	14866,99	3	4955,66	
Error	4032,83	51	79,08	
CV	11,46	%		

Elaborado por: Torres Freddy, 2015

El análisis de varianza para la estabilidad del pigmento que se detalla en la Tabla N. 4, muestra un Coeficiente de Variación del 11,46% y se observan diferencias estadísticas con respecto a los factores en estudio y a sus interacciones.

- **Efecto del pH**

Al analizar estadísticamente los valores obtenidos, se observa que los tratamientos tuvieron diferencia significativa con respecto al porcentaje de pigmento retenido en función del pH, se determinó que el pH 4 es en el que existió mayor retención, alcanzando un porcentaje de 87,07%, con respecto a los otros pH de 5 y 6, por lo tanto, para conservar la estabilidad del pigmento es mejor mantener un pH de 4 Tabla N. 5.

EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DEL PIGMENTO NATURAL OBTENIDO A PARTIR DEL MORTIÑO
(Vaccinium mytillus) COMO COLORANTE PARA LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS

TABLA N. 5

PRUEBA DE TUKEY PARA EL PORCENTAJE DE PIGMENTO RETENIDO RESPECTO AL pH

Factor	Promedios (%)	Rango estadístico
pH		
4	87,07	A
5	77,91	B
6	67,79	C

Elaborado por: Torres Freddy, 2015

En la Tabla N. 6 se observan los valores promedios obtenidos durante el tiempo de experimentación del porcentaje de pigmento retenido a los diferentes pH a los que fue sometido para evaluar su estabilidad.

TABLA N. 6

PORCENTAJE DE COLORANTE RETENIDO POR SEMANAS RESPECTO AL pH

Factor	Promedio porcentaje de retención semanas			
pH	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4
4	100	88,88	83,81	75,61
5	100	80,36	70,74	60,54
6	100	67,83	55,51	47,84

Elaborado por: Torres Freddy, 2015

En el Figura N. 1 se observa el comportamiento del porcentaje de colorante retenido durante las cuatro semanas bajo las condiciones de pH analizadas, se observó que en el pH 4 obtuvimos mayor estabilidad, seguido por el de 5, y por último el de 6. Se observa además, que a partir de la tercera semana el porcentaje de degradación del pigmento se hace más notable.

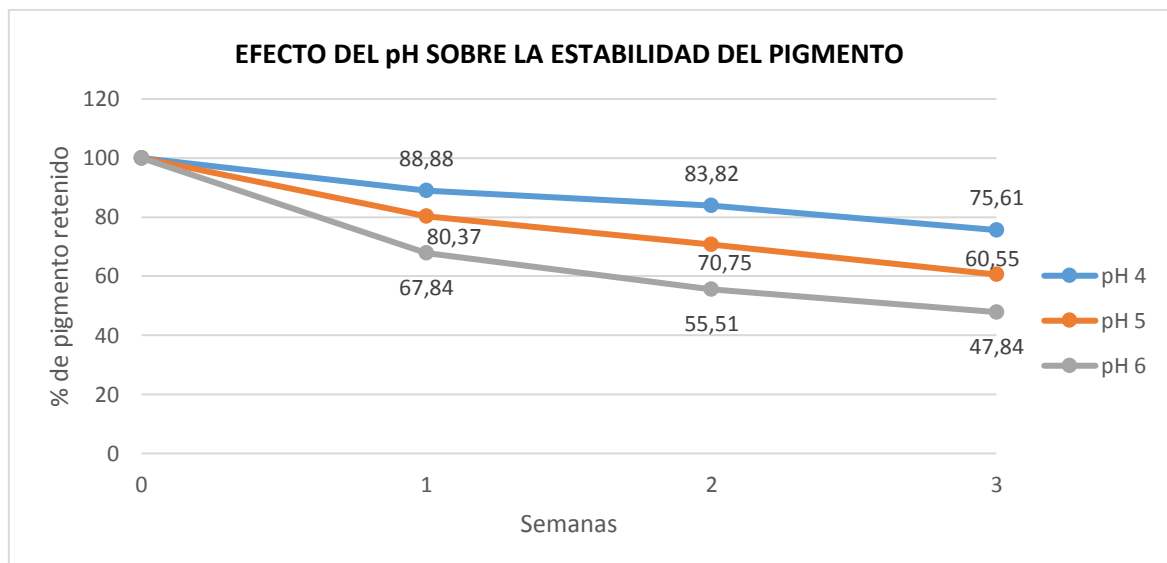


FIGURA N. 1: EFECTO DEL pH SOBRE LA ESTABILIDAD DEL PIGMENTO

Elaborado por: Torres Freddy, 2015

EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DEL PIGMENTO NATURAL OBTENIDO A PARTIR DEL MORTIÑO
(Vaccinium mytillus) COMO COLORANTE PARA LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS

• **Efecto de la Temperatura.**

En la prueba de Tukey se puede observar un mayor porcentaje de pigmento retenido para las muestras que fueron mantenidas a temperaturas de refrigeración y ambiente las cuales se ubicaron en el primer rango estadístico (a), como se muestra en la Tabla N. 7. Con estos resultados se puede apreciar que las temperaturas comprendidas entre 4 y 14°C ayudan a mantener el color del pigmento.

TABLA N. 7

PRUEBA DE TUKEY PARA EL PORCENTAJE DE PIGMENTO RETENIDO RESPECTO A LA TEMPERATURA

Factor	Promedios (%)	Rango estadístico
T°		
4	84,49	A
14	81,61	A
68	66,67	B

Elaborado por: Torres Freddy, 2015

En la Tabla N. 8 se muestran los promedios por semana del porcentaje de pigmento retenido a las diferentes temperaturas a las que fue sometido para evaluar su estabilidad.

TABLA N. 8

PORCENTAJE DE COLORANTE RETENIDO POR SEMANAS RESPECTO A LA TEMPERATURA

Factor	Promedios porcentajes temperaturas semanas			
T°	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4
4	100	86,9	79,68	71,39
14	100	85,18	75,59	65,68
68	100	64,98	54,79	46,91

Elaborado por: Torres Freddy, 2015

La temperatura influye en la estabilidad del pigmento, lo que se observa en el Figura N. 2, que el extracto de pigmento que presentó mayor estabilidad fue el sometido a temperaturas de 4°C, seguida por la de 14°C, no así las muestras sometidas a temperaturas de 68°C las cuales mostraron una notable degradación, lo que corroboró lo dicho anteriormente de mantener el pigmento a bajas temperaturas para conservar su estabilidad.

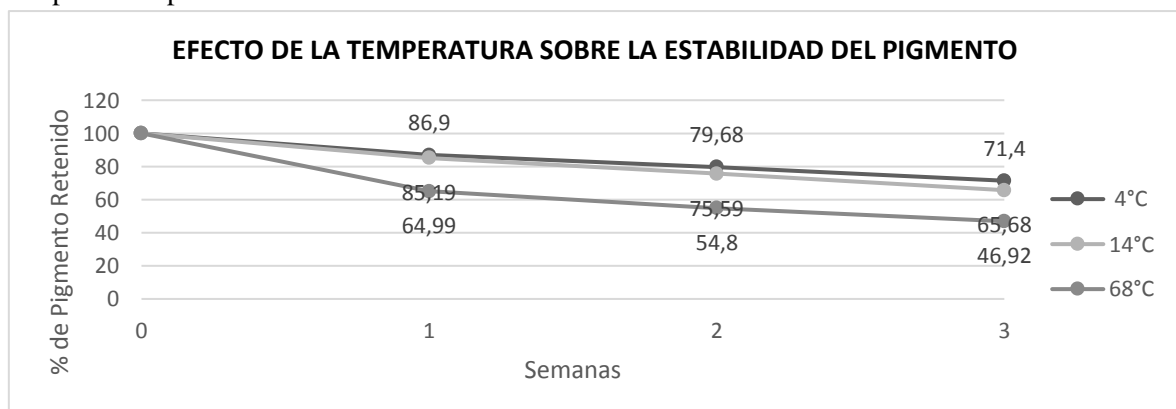


Figura N. 21: EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE LA ESTABILIDAD DEL PIGMENTO

EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DEL PIGMENTO NATURAL OBTENIDO A PARTIR DEL MORTIÑO
(Vaccinium mytillus) COMO COLORANTE PARA LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS

• **Efecto de las Condiciones de Almacenamiento.**

Al analizar estadísticamente los resultados obtenidos se aprecia que existen diferencias significativas entre los tratamientos, y se obtuvo un 80.45% de retención para las muestras mantenidas en oscuridad, lo que evidenció que el pigmento extraído es sensible a la luz, como se aprecia en la Tabla N. 9

TABLA N. 9:
PRUEBA DE TUKEY PARA EL PORCENTAJE DE PIGMENTO RETENIDO RESPECTO A LA EXPOSICIÓN

Factor	Promedios (%)	Rango estadístico
Exposición		
Oscuridad	80,45	A
luz	74,74	B

Elaborado por: Torres Freddy, 2015

En la Tabla N. 10 se pueden apreciar los valores promedios obtenidos por semana, del porcentaje de pigmento retenido a las diferentes condiciones de almacenamiento (en oscuridad y en presencia de luz), a las que fue sometido para evaluar la estabilidad.

TABLA N. 101:
PORCENTAJE DE COLORANTE RETENIDO POR SEMANAS RESPECTO A LA EXPOSICIÓN

Exposición	Promedio porcentaje exposición semanas			
Factores	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4
Oscuridad	100	81,37	73,44	66,98
Luz	100	76,67	66,6	55,68

Elaborado por: Torres Freddy, 2015

Como se puede apreciar en el Figura N. 3 las muestras que se mantuvieron en presencia de luz experimentan un mayor porcentaje de degradación del pigmento, mientras que las muestras que se mantuvieron en oscuridad experimentan un menor porcentaje de degradación.

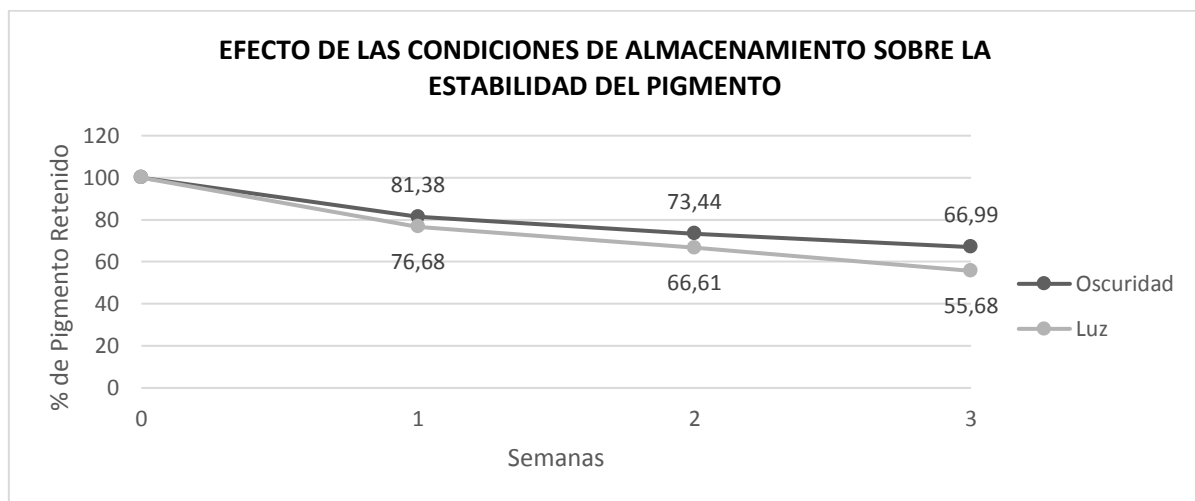


Figura N. 3: EFECTO DE LAS CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO SOBRE LA ESTABILIDAD DEL PIGMENTO

Elaborado por: Torres Freddy, 2015

EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DEL PIGMENTO NATURAL OBTENIDO A PARTIR DEL MORTIÑO
(*Vaccinium mytillus*) COMO COLORANTE PARA LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS

- **Efecto de la interacción pH vs Temperatura.**

Al analizar estadísticamente los resultados obtenidos mediante la prueba de Tukey, se observa que los tratamientos que se mantuvieron a pH de 4 y una temperatura entre los 4 y 14°C son iguales y existe un menor efecto en el porcentaje de degradación de los pigmentos, lo que nos indica que a pH 4 y temperatura de 4 y 14°C se conserva mejor la estabilidad del pigmento Tabla 11.

TABLA N. 11:
PRUEBA DE TUKEY PARA EL PORCENTAJE DE COLORANTE RETENIDO PARA LA INTERACCIÓN pH vs TEMPERATURA

Factores		Promedios (%)	Rango estadístico	
pH	T°			
4	4	97,5	A	
4	14	93,8	A	B
5	4	82,74	B	C
5	14	79,77	B	C
6	4	73,24	C	D
6	14	71,27	C	D
5	68	71,22	C	D
4	68	69,92	C	D
6	68	58,87	D	

Elaborado por: Torres Freddy, 2015

- **Efecto de la interacción Exposición vs Temperatura.**

En la Tabla N. 12 se presenta la prueba de Tukey para la interacción exposición vs temperatura en la que se observa un menor porcentaje de degradación en los tratamientos que se mantuvieron a temperaturas de 4 y 14°C y en condiciones de oscuridad, donde se reitera que las mejores condiciones para mantener la estabilidad del pigmento es a esas condiciones de almacenamiento, sin embargo, estos valores no difieren estadísticamente de los tratamientos conservados en presencia de luz y a las mismas temperaturas ya que comparten el mismo rango estadístico (a), esto se debe a que para alcanzar y mantener la temperatura de 4°C el pigmento tuvo que ser conservado en refrigeración.

TABLA N. 122: PRUEBA DE TUKEY PARA EL PORCENTAJE DE COLORANTE RETENIDO PARA LA INTERACCIÓN EXPOSICIÓN vs TEMPERATURA

Factores		Promedios (%)	Rango estadístico	
Exposición	T°			
Oscuridad	4	87,44	A	
Oscuridad	14	83,38	A	
luz	4	81,55	A	
luz	14	79,85	A	B
Oscuridad	68	70,52	B	C
luz	68	62,82	C	

Elaborado por: Torres Freddy, 2015

- **Efecto de la interacción Exposición vs pH.**

En la prueba de Tukey para la interacción exposición vs pH se puede apreciar que existe un menor porcentaje de degradación del pigmento para los tratamientos que fueron sometidos a condiciones de oscuridad y pH 4 con un valor de 89.24% de retención, se confirma que el pigmento es

EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DEL PIGMENTO NATURAL OBTENIDO A PARTIR DEL MORTIÑO
(*Vaccinium mytillus*) COMO COLORANTE PARA LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS

fotosensible, sin embargo, estadísticamente no difiere del tratamiento expuesto a luz y a temperatura de 4°C, ya que comparten el mismo rango (a) esto por lo señalado anteriormente Tabla N. 13.

TABLA N. 13: PRUEBA DE TUKEY PARA EL PORCENTAJE DE COLORANTE RETENIDO PARA LA INTERACCIÓN EXPOSICIÓN vs pH

Factores		Promedios (%)	Rango estadístico	
Exposición	pH			
Oscuridad	4	89,24	A	
luz	4	84,91	A	
Oscuridad	5	82,9	A	B
luz	5	72,92	B	C
Oscuridad	6	69,21	C	
luz	6	66,38	C	

Elaborado por: Torres Freddy, 2015

- **Efecto de la interacción Exposición, Temperatura y pH.**

La Tabla N. 14 muestra la prueba de Tukey para la interacción de los tres factores en estudio, se determinó que el nexos entre la temperatura, pH y exposición son determinantes en la estabilidad del pigmento extraído del mortiño, con un porcentaje de retención mayor en aquellas muestras que se mantuvieron en condiciones de oscuridad, pH 4 y temperaturas entre 4 y 14°C. Allí se afirma que las mejores condiciones para conservar la estabilidad del pigmento es mantener un pH de 4, temperaturas frías entre 4 y 14°C y en oscuridad.

TABLA N. 14: PRUEBA DE TUKEY PARA EL PORCENTAJE DE COLORANTE RETENIDO PARA LA INTERACCIÓN EXPOSICIÓN, TEMPERATURA, pH

Factores			Promedios (%)	Rango estadístico				
Exposición	pH	T°						
Oscuridad	4	4	98,12	A				
Oscuridad	4	14	97,23	A				
luz	4	4	96,88	A				
luz	4	14	90,37	A	B			
Oscuridad	5	4	88,73	A	B	C		
Oscuridad	5	14	83,17	A	B	C	D	
Oscuridad	5	68	76,79	A	B	C	D	E
luz	5	4	76,74	A	B	C	D	E
luz	5	14	76,36	A	B	C	D	E
Oscuridad	6	4	75,46	A	B	C	D	E
luz	6	14	72,8	B	C	D	E	
Oscuridad	4	68	72,36	B	C	D	E	
luz	6	4	71,01	B	C	D	E	
Oscuridad	6	14	69,74	B	C	D	E	
luz	4	68	67,48	B	C	D	E	
luz	5	68	65,66	C	D	E		
Oscuridad	6	68	62,42	D	E			
luz	6	68	55,32	E				

Elaborado por: Torres Freddy, 2015

- **Porcentaje de pigmento retenido por Semanas**

En base a la prueba de Tukey se puede apreciar diferencias significativas en el porcentaje de retención del pigmento durante el tiempo que se evaluó la estabilidad, haciéndose notoria la degradación a partir de la segunda semana que se tomó los valores, esto independientemente si el pigmento estuvo en presencia o ausencia de luz Tabla 15.

TABLA N. 15: PRUEBA DE TUKEY PARA EL PORCENTAJE DE PIGMENTO RETENIDO RESPECTO AL TIEMPO (SEMANAS)

Factor	Promedios (%)	Rango estadístico
Semana		
S 1	100	A
S 2	79,02	B
S 3	70,02	C
S 4	61,33	D

Elaborado por: Torres Freddy, 2015

En el Figura N. 4 se observa el comportamiento del porcentaje retenido que tuvo el pigmento extraído del mortiño en función del tiempo durante la determinación de su estabilidad.

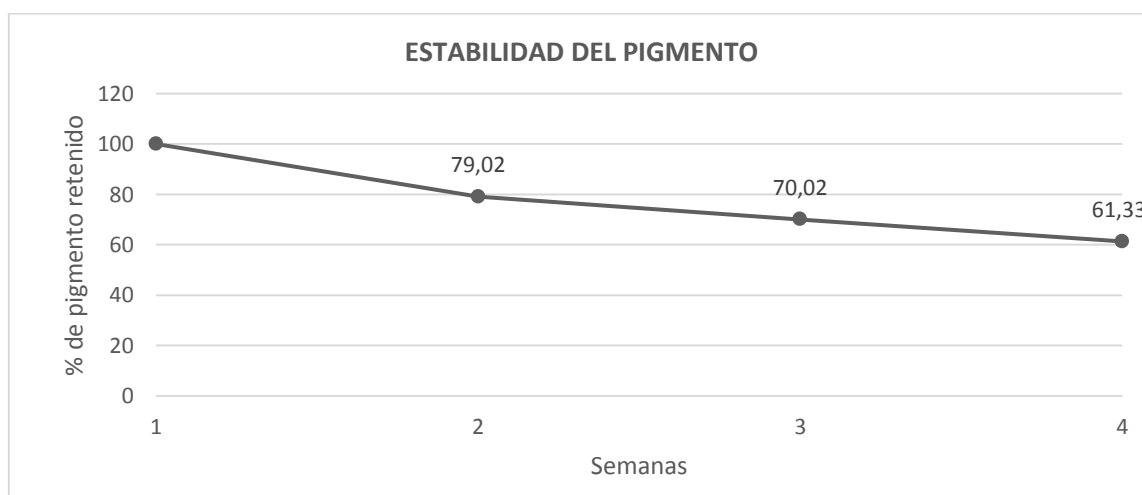


Figura N. 2: PORCENTAJE DE PIGMENTO RETENIDO RESPECTO AL TIEMPO (SEMANAS)
Elaborado por: Torres Freddy, 2015

Discusión

Se conviene con (Zapata, 2014), cuando afirma en su trabajo de investigación que: El método utilizado en un proceso de extracción de antocianinas debe maximizar la extracción de estos pigmentos con una mínima degradación o alteración del estado natural de los mismos, que la acidez tiene un efecto protector sobre la estructura de las antocianinas, mientras que, cuanto más elevado es el pH, aparecen estructuras inestables que se degradan con rapidez. Lo que se vio reflejado en la presente investigación que el pigmento fue más estable a pH de 4 y conforme se incrementó se degradó. Es por esto que las aplicaciones de las antocianinas en los sistemas alimenticios son preferentemente usadas en alimentos de acidez intermedia para que predomine el catión flavilio, que las temperaturas más elevadas provocan un efecto adverso sobre la estructura de las antocianinas, especialmente durante un tratamiento térmico o el almacenamiento, que la luz es un factor que acelera la degradación de las antocianinas. Esto corrobora los resultados

obtenidos, que la temperatura y la exposición a la luz influyeron en la degradación del pigmento obtenido a partir del mortiño. Por lo tanto, resulta importante proteger, no solo del oxígeno, sino también de la luz a los productos ricos en antocianinas.

En relación a la influencia del pH sobre el porcentaje de degradación del pigmento se conviene con lo señalado por (Guerrero, López, & Armenta, Química de los Alimentos, 2006), en donde se menciona que a pH ácidos adquieren una estructura oxonio estable de catión flavilo colorido. Al aumentar el pH se promueve la desprotonación del catión flavilo; a pH 7.0 y superiores debido a la desprotonación continuada predominan las formas quinoidales, en estos casos el efecto batocrómico es considerable y afecta el color en tal forma que se presenta una coloración azul. Esto refleja por qué las muestras mantenidas a pH bajos mantuvieron su color y no así las que fueron sometidas a pH de 6 que tomaron una coloración diferente. Con respecto a la influencia de la temperatura sobre la estabilidad del pigmento se concuerda con lo establecido por (Guerrero, López, & Armenta, Química de los Alimentos, 2006), donde mencionan que los tratamientos térmicos también influyen marcadamente en la destrucción de las antocianinas; son termolábiles y existe una relación logarítmica entre la pérdida del color y la temperatura. Esto se ve reflejado en el porcentaje de pigmento retenido en los tratamientos sometidos a bajas temperaturas en las cuales fue mayor y no así aquellos tratamientos en los cuales su temperatura de exposición fue mayor y por tanto el porcentaje de retención se fue afectado.

Se puede concordar con Ortiz, en su investigación referente a la: Caracterización y estabilidad de las antocianinas de higo ficus carica variedad misión cultivado en ciudad lerdo Durango, al mencionar que las mejores condiciones para almacenamiento de los extractos metanólicos acidificados de antocianinas son pH 3.0, temperatura de 4°C y en oscuridad. (Ortiz, 2009). Esto corrobora los datos obtenidos en esta tesis que para mantener una mejor estabilidad del pigmento se debe manejar temperaturas de 4°C, pH bajos y mantenerlo protegido de la luz.

Mandujano, en su investigación referente al: Estudio preliminar de los pigmentos presentes en cáscara de pitaya (*stenocereus stellatus*) de la región Mixteca, en donde, tuvo como objetivo establecer las condiciones de extracción y estudiar la estabilidad del pigmento proveniente de la cáscara de *Stenocereus stellatus* (Xoconostle), afirma que el principal factor que afectó significativamente la estabilidad del pigmento fue la temperatura, y degradó casi en su totalidad al pigmento. A mayor temperatura mayor degradación del pigmento. La temperatura de 4°C retuvo un 40-50% más de pigmento que las de 25 y 68°C, que el pH fue otro factor que tuvo un efecto significativo sobre la estabilidad del pigmento, siendo más estable a pH bajos. El extracto de las cáscaras de pitaya fue más estable a temperaturas de 4°C, con un pH de 5 y en ausencia de luz. Se conviene con él en función de los datos que arrojó esta investigación, en probar el pigmento obtenido del mortiño como aditivo colorante en alimentos que mantengan condiciones adecuadas para asegurar su estabilidad, es decir aquellos con pH bajos, almacenados a bajas temperaturas (refrigeración o preferentemente congelados) y protegidos de la luz. (Mandujano, 2006).

Se conviene con Menéndez, cuando afirma que se puede utilizar al mortiño para extraer el colorante antociánico y poder utilizarlo con fines alimenticios. Que se debe controlar la acidez del concentrado para mantener la estabilidad de la antocianina, tal como se vio reflejado en la

parte experimental de esta investigación que el pH juega un papel importante en la estabilidad del pigmento.

Se conviene con Santacruz, el cual afirma que el pH es un factor que afecta significativamente el color de los extractos enriquecidos en antocianinas y se ha mostrado la relevancia del pH y el tiempo de almacenamiento sobre la relación estructura química y color. Esto confirma nuevamente los datos obtenidos en esta tesis, que el pH juega un papel importante para mantener el color del pigmento extraído. El conocimiento sobre la estabilidad del color aquí generado es un aporte valioso para el establecimiento de las condiciones de procesamiento de la fruta, teniendo en cuenta que ocurren transformaciones apreciables, se deben utilizar mecanismos que inhiban la pérdida de color. (Santacruz, 2011).

4. Conclusiones

Como conclusión del presente trabajo de investigación sobre la Evaluación de la estabilidad del pigmento natural obtenido a partir de mortiño (*Vaccinium myrtillus L*) como colorante para la industria de alimentos, es importante mencionar que:

- Se logró extraer pigmento natural a partir del mortiño (*Vaccinium myrtillus L*), éste fue sometido a operaciones básicas de transformación como las de adecuación, en las que permitió acondicionar el mortiño desde su fase de recepción hasta la de enjuague. Luego aplicamos las operaciones de escaldado, triturado lo que permitió desintegrar el mortiño y facilitar la extracción del pigmento. Seguido de esto empleamos operaciones de conservación las mismas que ayudaron al proceso de extracción y estudio de la estabilidad.
- Durante el proceso de extracción la fruta se liofilizo, esto permitió reducir el tiempo de extracción del pigmento ya que el agua contenida en la fruta fue sublimada en forma de hielo, durante el macerado se aplicó como solvente una mezcla de etanol (96°)- ácido cítrico en relación peso / volumen del 0.03%, durante 24 horas a una temperatura de 4°C y protegido de la luz, fue filtrado y sometido a rotovaporación a una temperatura de 78±2°C, 95 rpm y un tiempo de extracción de 1 h 15 min, el resultado fue conservado en refrigeración hasta su estudio.
- En la caracterización del pigmento natural obtuvimos: pH de 1.91, sólidos solubles 80°Brix, además se determinó que es soluble en agua y muy soluble en etanol, se realizó un barrido entre 330 y 900 nm en el que se obtuvo un máximo de absorción de 516 nm, estableciendo que son antocianinas del tipo de las cianidinas que tienen un rango máximo de absorción de 516 a 520 nm.
- En cuanto al análisis de la estabilidad del pigmento en función del tiempo se determinó que la interacción entre la temperatura, pH, ambientes de almacenamiento (presencia o ausencia de luz), son determinantes en la estabilidad del pigmento extraído del mortiño, estableciendo que las mejores condiciones para conservar su estabilidad es mantener un pH de 4, temperaturas entre 4 - 14°C y protegidos de la exposición a la luz.
- El mortiño puede ser empleado como materia prima para la extracción de pigmento natural y ser aplicado como colorante en la industria alimentaria, considerando las condiciones para conservar su estabilidad y el método de extracción debe garantizar la máxima extracción de los pigmentos con la mínima degradación del estado natural de los mismos.

5. Recomendaciones

Una vez concluida la tesis, se considera interesante investigar sobre otros aspectos relacionados la estabilidad de pigmentos naturales y se propone:

- Probar el pigmento extraído del mortiño en alimentos procesados en los cuales se mantienen las condiciones óptimas de estabilidad; pH ácidos, temperaturas bajas de almacenamiento y protegidos de la luz.
- Realizar pruebas de estabilidad al pH natural del extracto de mortiño (pH 1.91), para establecer la duración que este tendría sin realizar modificación alguna a sus características iniciales.
- Aplicar la metodología de extracción en otras especies que crecen de manera natural en las diferentes zonas de la región las que presentan características tintóreas que pueden ser explotadas agroindustrialmente, como es el caso del motilón, evilan, cerote.
- Fomentar el uso de este fruto en la elaboración de productos alimenticios como: mermeladas, helados, pulpas, yogur, etc. Los cuales presentan las condiciones ideales de estabilidad de las antocianinas y no tendrían problemas por degradación del color.
- Cuidar el hábitat en donde se desarrolla esta especie y muchas otras que poseen no solo propiedades colorantes, sino medicinales y que tienen un potencial para ser explotadas, respetando los derechos de la naturaleza como lo expresa nuestra constitución.

6. Referencias bibliográficas:

- Fuleki, T., & Francis, F. (1968). *Quantitative Methods for Anthocyanins Extraction and Determination of Total Anthocyanins in cranberries*. EE.UU: Journal of Food Science.
- Guerrero, I., López, E., & Armenta, R. (2006). *Química de los Alimentos*. México: Pearson Educación.
- Mandujano, R. (2006). *Estudio preliminar de los pigmentos presentes en cáscara de pitaya (stenocereus stellatus) de la región de Mixteca*. Huajuapán de León, Oaxaca: Universidad Tecnológica de Mixteca.
- Menéndez, W. (2008). *Obtención De Colorante Para Su Uso En Yogurt A Partir De La Flor De Jamaica (Hibiscus sabdariffa) y Del Mortiño (Vaccinium mytillus L.)*. Guayaquil: Escuela Superior Politécnica del Litoral.
- Niño, V. (2011). *Metodología de la Investigación*. Bogotá: Ediciones de la U.
- Ortíz, M. (2009). *Caracterización y estabilidad de las antocianinas de higo ficus carica variedad misión cultivado en ciudad lerdo Durango*. México: Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Padrón, E. (2009). *Diseños experimentales con aplicación a la agricultura y la ganadería*. México D.F.: Trillas.
- Rodríguez, M. (2002). Alimentos con color natural. *Consumer*.
- Sánchez, R. (2013). La química del color en los alimentos. *Química Viva*, 234-246.
- Santacruz, L. (2011). *Análisis químico de antocianinas en frutos silvestres colombianos*. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.+
- Zapata, L. (2014). *Obtención de extracto de antocianinas a partir de arándanos para ser utilizado como antioxidante y colorante en la industria alimentaria*. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia.