

UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA

**EXTRACCIÓN DE ANTOCIANINAS DEL CAMOTE (*Ipomoea batatas*, L) Y
SU APLICACIÓN COMO COLORANTE NATURAL EN YOGUR**

POR:

OSCAR ONAN REYES MORALES

ANTEPROYECTO DE TESIS



CATACAMAS

OLANCHO

JUNIO, 2024

EXTRACCIÓN DE ANTOCIANINAS DEL CAMOTE (*Ipomoea batatas*, L) Y SU APLICACIÓN
COMO COLORANTE NATURAL EN YOGUR

POR:

OSCAR ONAN REYES MORALES

JHUNIOR ABRAHAN MARCÍA FUENTES

Asesor Principal

ANTEPROYECTO DE TESIS

PRESENTADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA COMO
REQUISITO PREVIO A LA REALIZACIÓN DEL TRABAJO PROFESIONAL
SUPERVISADO

CATACAMAS

OLANCHO

JUNIO, 2024

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. OBJETIVOS.....	2
2.1. Objetivo general	2
2.2. Objetivos específicos:	2
III. HIPÓTESIS.....	3
3.1. Pregunta problema:	3
3.2. Hipótesis alternativa (Ha):	3
3.3. Hipótesis nula (Ho):.....	3
IV. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
4.1. Aspectos de la problemática	4
4.2. Colorantes alimentarios.....	5
4.3. Importancia del uso de los colorantes	5
4.4. Clasificación de colorantes.....	6
4.5.1. Colorantes artificiales	6
4.5.2. Colorantes Naturales	8
4.6. Antocianinas.....	9
4.6.1. Estructura química.....	10
4.6.2. Factores que influyen en la estabilidad de las antocianinas (temperatura).....	11
4.6.3. Factores que influyen en la extracción de las antocianinas	12
4.6.3.2. Tiempo de extracción o difusión:	12
4.6.3.3. Equilibrio entre el soluto y el disolvente:	12
4.8. Extracción asistida por ultrasonido.....	14
4.8.1. Variables que afectan la extracción asistida por ultrasonido	17
4.9. Análisis sensoriales.....	17
V. MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
5.1. Lugar de la investigación.....	18
5.2. Sujetos de la investigación	18
5.2.1. Población	18
5.2.2. Muestra.....	18
5.3. Materiales y equipo.....	20
5.4. Método.....	21

5.4.1. Metodología	21
5.4.2. Variables de estudio	23
5.4.2.1. Variables dependientes:	23
5.4.2.2. Variables independientes:	23
5.4.3. Diseño experimental en la extracción de colorante.....	23
5.4.4. Diseño experimental en la evaluación sensorial de yogur más colorante.....	25
5.4.5. Análisis estadístico	26
5.4.6. Proceso de extracción del colorante.	26
5.4.6.1. Recepción de materia prima.....	26
5.4.6.2. Selección.....	26
5.4.6.3. Lavado y desinfección	27
5.4.6.4. Escaldado	27
5.4.6.5. Pelado	27
5.4.6.6. Pesado.....	27
5.4.6.7. Deshidratado	27
5.4.6.8. Molido	28
5.4.6.9. Homogeneización 1.....	28
5.4.6.10. Lixiviación	28
5.4.6.11. Centrifugado.....	28
5.4.6.12. Homogeneización 2.....	29
5.4.6.13. Extracción por ultrasonido	29
5.4.6.14. Filtrado al vacío	29
5.4.6.15. Concentrado	29
5.4.6.16. Almacenamiento.....	29
5.4.6.17. Diagrama de flujo	30
5.4.7. Protocolo para determinación de antocianinas totales.....	31
5.4.8. Procedimiento para la determinación de polifenoles totales.....	31
5.4.9. Incorporación del colorante natural en yogur.....	32
VI. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES	33
VII. PRESUPUESTO.....	34
VIII. BIBLIOGRAFÍA.....	35
ANEXOS.....	39

I. INTRODUCCIÓN

El creciente interés por el consumo de alimentos naturales y saludables ha impulsado múltiples investigaciones en la búsqueda de ingredientes o compuestos bioactivos beneficiosos para la salud. En este contexto, el camote (*Ipomoea batatas*, L) se ha destacado por su alto contenido de antioxidantes (i. e. antocianinas y betacaroteno), que le confieren propiedades nutricionales y funcionales, destacando las antocianinas presentes en la cascara por su capacidad de ser aplicadas como colorantes naturales (Leon & Chávez, 2019).

En el presente estudio, se propone evaluar el potencial del camote en el desarrollo de una bebida fermentada tipo yogur, evaluando de esta manera el uso de las antocianinas como colorante natural, siendo importantes compuestos bioactivos con beneficios para la salud en contraposición a los colorantes sintéticos en la industria alimentaria (Reyes, *et al.*, 2023).

Atendiendo las incidencias negativas sobre la salud de las personas se espera incorporar el camote en el desarrollo de una bebida fermentada tipo yogur tanto por sus aportes nutricionales como funcionales desarrollando al mismo tiempo un colorante natural a partir de un subproducto agrícola como lo es la cáscara de camote, con lo cual también se estará contribuyendo a la sostenibilidad y la economía circular. Entendiendo que la aplicación de los compuestos bioactivos presentes en el camote puede ofrecer beneficios para la salud de los consumidores (Leon & Chávez, 2019).

Por lo tanto en la búsqueda de un nuevo producto alimenticio con propiedades antioxidantes se plantea evaluar el compuesto bioactivo antocianina presente en el camote mediante la caracterización fitoquímica, fisicoquímica y sensorial de los tratamientos.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Extraer antocianinas del camote (*Ipomoea batatas*, L) para su aplicación como colorante natural en yogur.

2.2. Objetivos específicos:

Optimizar la temperatura, tiempo de extracción y concentración de disolvente etanol en la extracción de antocianinas asistida por ultrasonido.

Obtener la formulación con mayor aceptación a partir de pruebas sensoriales en consumidores a escala de laboratorio.

Evaluar las propiedades fisicoquímicas y fitoquímicas de la formulación optimizada a partir de análisis instrumental.

III. HIPÓTESIS

3.1. Pregunta problema:

¿Es posible extraer antocianinas en mayor cantidad a partir de la cascara del camote (*Ipomoea batatas*, L) mediante extracción asistida por ultrasonido?

3.2. Hipótesis alternativa (Ha):

Existe diferencia significativa en cuanto a la cantidad de antocianinas y polifenoles totales en los diferentes tratamientos evaluados con una temperatura, tiempo de extracción y concentración de etanol diferente.

3.3. Hipótesis nula (Ho):

No existe diferencia significativa en cuanto a la cantidad de antocianinas y polifenoles totales en los diferentes tratamientos evaluados con una temperatura, tiempo de extracción y concentración de etanol diferente.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. Aspectos de la problemática

De acuerdo al Centro de Ciencias en el Interés Público (CSPI), la industria de alimentos agrega 15 millones de libras de colorantes artificiales a los alimentos de Estados Unidos (Mercola, 2018), el uso de colorantes alimentarios, sin importar su origen, constituye un tema de preocupación debido a la incidencia que presenta en la salud de sus consumidores. Numerosos estudios han demostrado los peligros de los colorantes artificiales en los alimentos (Siva, 2014). Es por ello que los colorantes alimenticios sintéticos han cobrado trascendencia, pues se ha fundado intranquilidad por causar problemas de salud (Oplatowska & Elliott, 2017).

Como una muestra de lo anterior encontramos el estudio efectuado en el año 2007 por los científicos de la Universidad de Southampton (Reino Unido), los cuales determinaron que los niños que ingerían jugo de frutas con colorantes artificiales y conservantes como el benzoato de sodio, presentaron un incremento de la hiperactividad en comparación con los niños que tomaban solo el jugo de fruta natural, por lo tanto eluden que el comportamiento se ve afectado por la alimentación con la incidencia de colorantes artificiales (Carmona, 2013).

A pesar de ello los adolescentes, en su mayoría, tienden a tener un consumo excesivo de bebidas tales como gaseosas y jugos que son producidas con un alto contenido de colorantes sintéticos, los cuales como bien se ha advertido pueden llegar a ser nocivos para la salud (Kraser & Hernández, 2020). Es así que durante los últimos años los colorantes sintéticos se han relacionado con efectos cancerígenos, alergias y daños en la piel, debido a estas consecuencias se pretende que en pocos años estos aditivos sean sustituidos por colorantes naturales seguros y a costos accesibles para la población (Ayala, *et al.*, 2016).

Esto se debe a que a diferencia de los colorantes sintéticos los colorantes naturales en los últimos años han sido motivo de diversos estudios cuyos resultados brindan una perspectiva positiva, destacando a las frutas y hortalizas como una excelente fuente alternativa de compuestos bioactivos naturales que al mismo tiempo fungen como una fuente confiable de colorantes alimentarios, permitiendo la obtención de una amplia gama de moléculas colorantes, como antocianinas, betalaínas, carotenoides y clorofilas (Oliveira, *et al.*, 2021).

4.2. Colorantes alimentarios

Los colorantes alimentarios son denominados aditivos que pueden ser de origen natural o sintético los cuales se agregan a varios alimentos para colorear o compensar la pérdida de color cuando el alimento se ve afectado por el proceso de producción, almacenamiento, empaque o distribución su objetivo es conservar la apariencia de los alimentos y bebidas (Lim, Kim, Lee, & Shin, 2019).

Debido a que la impresión de color representa entre el 60 y el 90% de la elección final de aceptación/rechazo de parte de los consumidores (Pérez, Viera, & Roca, 2020), es que los colorantes cobran relevancia dentro de la industria por el aspecto visual de los alimentos. Se pueden obtener a partir de alimentos y otros materiales comestibles naturales de base, mediante una extracción física, química o fisicoquímica, c o n d u c i e n d o a la separación de los pigmentos respecto de los componentes nutritivos o aromáticos (Gilete & Romero, 2017).

4.3. Importancia del uso de los colorantes

Según Escudero-Gilete & Romero, (2017), son varias las razones por las cuales se emplean colorantes en los alimentos, por mencionar las más interesantes tenemos:

- Restaurar la apariencia original de los alimentos cuyo color se ha visto afectado por la transformación, almacenamiento, envasado y distribución, pudiendo haber quedado

mermado su atractivo visual. Los tratamientos tecnológicos pueden afectar el color haciendo que se debilite o se altere.

- Intensificar el color normal del alimento y mejorar la apariencia. La función de mejorar la apariencia del alimento no deja de ser un aspecto interesante dentro de la calidad de éste. Recordando que el color suele ser uno de los factores en el mercado más importantes para el consumidor al momento de adquirir los alimentos.

- Preservar las características asociadas al alimento. El color, de hecho, está asociado al sabor y aroma (los colores sugieren la identificación de sabores), el amarillo se relaciona con el aroma de limón o plátano, el rosa con el de fresa, el marrón con el de chocolate, etc.

4.4. Clasificación de colorantes

La clasificación de los colorantes se puede realizar de diversas formas: origen, color, estructura química, etc., pero la clasificación más común se atiende a su origen y su color. Así existen colorantes naturales que tiene su homólogo en la naturaleza y los colorantes sintéticos o artificiales obtenidos por síntesis química los cuales carecen de su equivalente natural. Esta clasificación tiene interés en el campo de la alimentación pues el término natural suele tener un prejuicio favorable, mientras que el sintético o artificial suele considerarse negativamente (Gilete & Romero, 2017).

4.5.1. Colorantes artificiales

Son colorantes elaborados por el hombre a través de procesos de síntesis química y que no existen por sí mismos en la naturaleza, estos requieren de una certificación en la cual se estipulan especificaciones que se deben cumplir para llevar a cabo su implementación. Dichas certificaciones son generadas por diversas autoridades sanitarias y expertos. Entre los más utilizados están el amarillo 5 (tartracina), amarillo 6 (amarillo crepúsculo), rojo 2

(amaranto), rojo 40 (rojo allura), y Rojo 3 (eritrosina) (Belmonte, *et al.*, 2016).

En la siguiente tabla se describe la tonalidad de algunos de los colorantes mencionados junto a otros colorantes sintéticos utilizados en la industria.

Tabla 1. Tonalidad de diferentes colorantes sintéticos

COLORANTES SINTÉTICOS TONALIDAD		
Nombre del colorante	Código de identificación	Tonalidad
Tartrazina	E 102	Amarillo limón
Amarillo sol FCF	E 110	Amarillo anaranjado
Azorrubina, carmoisina	E 122	Rojo
Amaranto	E 123	Rojo
Rojo cochinilla A o rojo Ponceau 4R	E 124	Rojo *
Rojo 2G	E 128	Rojo
Negro brillante BN	E 151	Negro
Marrón FK	E 154	Marrón
Marrón HT	E 155	Marrón rojizo
Litol Rubina BK	E 180	Rojo
Amarillo de quinoleina	E 104	Amarillo
Eritrosina	E 127	Rojo
Azul patentado V	E 131	Azul
Indigotina o carmín de índigo	E 132	Carmín
Azul brillante FCF	E 133	Azul
Verde ácido brillante BS	E 142	De verde oscuro a azul oscuro.

*Sin relación alguna con la auténtica –cochinilla (E120). Fuente: (González, 2018).

En cuanto a la seguridad en el uso de los colorantes sintéticos se han realizado numerosos estudios que intentan mostrar en un panorama general el efecto a la salud que estos producen. Destacando que a muchos de estos colorantes se les atribuyen perturbaciones en el comportamiento de los niños. Tales hechos han generado que su uso en alimentos se limite cada vez más (Belmonte, *et al.*, 2016).

4.5.2. Colorantes Naturales

Constituyen al grupo de aditivos obtenidos a partir de elementos y materias de origen natural, derivados de plantas o minerales. La mayor parte de los colorantes naturales son colorantes vegetales provenientes de plantas, y otras fuentes orgánicas como, por ejemplo, los hongos y los líquenes. Las fuentes destacadas de su origen son las antocianinas, carotenoides, betalaínas y clorofilas; que pueden prestar tonalidades cálidas, frías y acromáticas de pigmentación (Olmedo, 2022).

Entre los colorantes naturales se encuentran: Los hidrosolubles; solubles en agua, los liposolubles o solubles en la grasa, y los minerales como se puede observar en la siguiente tabla.

Tabla 2. Clasificación de colorantes naturales

Colorantes naturales hidrosolubles	
Curcumina (E100)	Riboflavina, lactoflavina o B2 (E101)
Cochinilla o ácido camínico (E120)	Caramelo (E150)
Betanina o rojo remolacha (E162)	Antocianos (E163)
Colorantes naturales liposolubles	
Clorofilas (E140 y 141)	Carotenoides (E160)
Xantofilas (E161)	
Minerales	
Carbón vegetal (E153)	Carbonato cálcico (E170)
Dióxido de titanio (E171)	Óxidos e hidróxidos de hierro (E172)
Aluminio (E173)	Plata (E174)
Oro (E175)	

Fuente: (González, 2018).

-Antocianinas: Se identifican con el código (E163), son hidrosolubles, sus colores son rojo, violeta y azul, son utilizadas para colorear postres en polvo, lácteos, confitería, refrescos y preparados de frutas (Xu, *et al.*, 2015).

-Betaninas: Son hidrosolubles, la única aprobada es de la remolacha con el código (E162),

su color rojo-violeta (betacianinas) y amarillo-anaranjado (betaxantinas), se aplican en productos lácteos y cárnicos (Rodríguez, 2016).

-Carotenoides: Son liposolubles, su gama de color es amarillo-anaranjado, el β -caroteno es el más común, son una gran opción como colorantes en productos lácteos, salsas, adobos, especias, bebidas (Pinheiro, *et al.*, 2017).

-Clorofilas: Se encuentran bajo el código (E140), son liposolubles, su coloración es verde, se utilizan en los alimentos tanto la (a) como la (b) para colorear productos lácteos, dulces, bebidas, helados (Pinheiro, *et al.*, 2017).

-Curcumina: Se identifica como (E100), es hidrosoluble, presenta un color amarillo intenso, es empleado como colorante para derivados lácteos, helados, especias y mostaza (Carocho, Morales, & Ferreira, 2015).

-Ácido carmínico: Su código es (E120), su principal fuente es el insecto *Dactylopius coccus*, su color es rojo brillante, se emplea como colorante de mermeladas, gelatina y derivados lácteos (Carocho, Morales, & Ferreira, 2015).

La demanda comercial de estos colorantes está encabezada por los carotenoides en un 34%, seguido de las antocianinas con el 24% y el resto un 10%, con un incremento en los porcentajes en un 6.4% para los años siguientes. Con esto se destaca la utilización de los colorantes naturales en los alimentos, siendo una tendencia actual, tanto para los fabricantes como para los consumidores donde diversos estudios han demostrado que la población prefiere los aditivos naturales en lugar de los artificiales, la principal razón es cuidar su salud (Yusuf, Shabbir, & Mohammad, 2017).

4.6. Antocianinas

Son pigmentos hidrosolubles con propiedades antioxidantes que han ganado interés por la industria de alimentos como una alternativa de colorante natural a los colorantes sintéticos

se enumeran en el Codex Alimentarius bajo el código E163. Poseen coloraciones rojas, violetas y azuladas dichas tonalidades las hace atractivas para teñir los alimentos (Kamiloglu, *et al.*, 2015).

Su uso está autorizado en gran variedad de alimentos incluyendo queso, conservas de frutos rojos, confituras, jaleas, mermeladas, pasta de pescado y pasta de crustáceos, crustáceos precocinados y pescado ahumado según el reglamento (UE) N°1129/2011. No se han detectado efectos nocivos en su consumo, por lo que tampoco se ha fijado una ingesta diaria admisible por lo cual son una excelente alternativa para los colorantes artificiales carmoisina, rojo 40 (Escudero & Romero, 2017).

Se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza especialmente en los frutos y vegetales de colores rojizos como son los arándanos, cerezas, cebollas rojas, frambuesas, fresas, rábanos, ajíes o chiles, así como también en ciruelas, grosellas moradas, uvas, zarzamora, otros productos agrícolas como la col morada, **el camote morado**, la baya de sauco y la zanahoria negra también son otra excelente fuente de antocianinas que se emplean como colorantes de alimentos aprobados en diversos países (Ahmadiani, *et al.*, 2014).

4.6.1. Estructura química

Por su estructura química pertenecen al grupo de los flavonoides, en la naturaleza se presentan como glucósidos denominados antocianidinas, se estima la presencia de más de 600 de las cuales solamente 6 son las más comunes entre ellas Cianidina (Cy), Delfinida (Dp), Malvidina (Mv), Pelargonidina (Pg), Peonidina (Pn), Petunidina (Pt), sus características estructurales son dos anillos aromáticos (A y B) y un anillo heterocíclico (C), éstas se diferencian por los 12 sustituyentes R y R que se evidencian en la figura 1, que a su vez se unen a los azúcares como la arabinosa, galactosa, glucosa, ramnosa, rutinosa y xilosa (Ahmadiani, *et al.*, 2014).

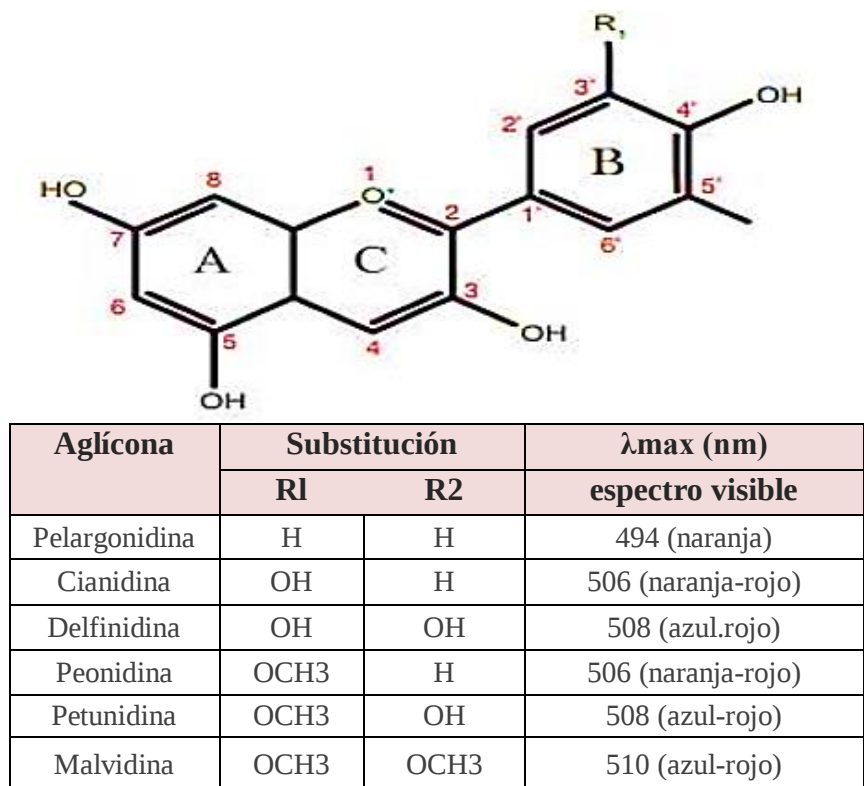


Figura 1. Estructura y constituyentes de las antocianinas. Fuente: (Ahmadiani, *et al.*, 2014).

4.6.2. Factores que influyen en la estabilidad de las antocianinas (temperatura)

En general, los estudios muestran que las temperaturas más elevadas provocan un efecto adverso sobre la estructura de las antocianinas, especialmente durante un tratamiento térmico o en el almacenamiento, sin embargo, los valores más altos de antocianinas extraídas de un determinado producto fueron a temperaturas altas (Martínez, 2015).

Probablemente este último efecto se deba a la mayor transferencia de antocianinas desde la matriz que lo contiene hacia el seno de la disolución extractiva. Por lo tanto, en el proceso de extracción de antocianinas de un determinado producto habría que buscar una temperatura de compromiso que favoreciera el proceso de extracción, pero no perjudicara a la calidad del extracto (Zapata, 2014).

4.6.3. Factores que influyen en la extracción de las antocianinas

4.6.3.1. Tamaño de la partícula:

La reducción del tamaño de la partícula facilita la extracción del constituyente deseado, presente en una estructura compuesta. Así para obtener una buena difusión del soluto en el solvente es necesario determinar el grado de fineza del producto (Salas & Párraga, 2018).

Cuanto más pequeñas sean las partículas mucha mayor es el área inter- facial entre el sólido y el líquido, sin embargo, cuando el material es demasiado fino ofrece dificultades en la extracción ya que en algunos casos impide la libre circulación del líquido, la separación de las partículas del líquido y el drenaje del sólido residual se hace más difícil y en algunos casos la ruptura de las células deja en libertad materiales indeseables (Zapata, 2014).

4.6.3.2. Tiempo de extracción o difusión:

Generalmente se da el tiempo suficiente como para lograr un buen contacto del sólido con el solvente (Salas & Párraga, 2018).

4.6.3.3. Equilibrio entre el soluto y el disolvente:

Es necesario hallar una relación adecuada entre el disolvente y la materia prima a ser extraída. Una proporción alta da lugar a extractos demasiados diluidos y si es muy baja no habrá buena difusión. El equilibrio se alcanza cuando el soluto se disuelve totalmente y la concentración de la disolución formada es uniforme (Robbins, *et al.*, 2014).

4.7. El camote (*Ipomoea batatas*, L)

El camote (*Ipomoea batatas*) es una raíz tuberosa originaria de América, su cultivo se ha

extendido a diversas regiones del mundo, donde el clima ha permitido su adaptación agronómica. El color de la piel del camote morado (*Ipomoea batatas*) está asociado a la presencia de antocianinas (Chávez, 2023).

El camote fue cultivado a lo largo de América Central y Sudamérica antes del primer contacto europeo, siendo una de las primeras plantas introducidas a Europa después de los viajes de Colón en 1492. De Europa los exploradores portugueses en el siglo XVI expandieron este cultivo hacia África, India, Sureste de Asia y las Indias Orientales, alcanzando luego Nueva Guinea, las Islas del Pacífico Oeste, China y Japón (Chávez, 2023).

De acuerdo con la *Food and Drug Administration* (FDA), el camote posee una poderosa cantidad de vitamina A (retinol) la cual es un excelente antioxidante. Dicha cantidad le otorga a una persona más del 100% de la cantidad mínima diaria. El aporte de proteína del camote es de (0.5 - 2.1 g/100g). La calidad de su aporte proteico es valiosa dado que contiene aminoácidos esenciales, importantes para el buen funcionamiento del organismo (Vidal, *et al.*, 2018). A continuación se observa la correspondiente tabla de valor nutricional.

Tabla 3. Composición nutricional de *Ipomoea batatas*

Nutriente	Cantidad
Energía	114
Proteína	1.10
Grasa total (mg)	0.10
Colesterol (mg)	-
Glúcidos	28.80
Fibra (g)	1.10
Calcio (mg)	19
Hierro (mg)	2.10
Yodo (µg)	-
Vitamina A (mg)	10
Vitamina C (mg)	48
Vitamina D (µg)	-
Vitamina E (mg)	0
Vitamina B12 (mg)	-
Folato (µg)	0

Fuente: (Vidal, *et al.*, 2018).

Dentro de la variedad de camote se destaca el camote morado el cual posee un contenido elevado de antocianinas aciladas de color rojo, violeta- azulado, lo que contribuye a una mayor estabilidad (Sun et al., 2018), además por su alta capacidad colorante en Japón su puré es un colorante común para la industria de jugos, bebidas, confitería, panadería e industria láctea (Xu et al., 2015).

4.7.1. Propiedades funcionales y bioactivas del camote (*Ipomoea batatas*, L)

El sabor dulce del camote es dado por la degradación del almidón a azúcares simples como sacarosa, siendo este el mayor componente, seguido de la fructosa y glucosa. Entre los carbohidratos indigeribles por los humanos, se encuentra la celulosa y hemicelulosa, que funcionan como fibra acelerando el tránsito intestinal de los alimentos. Por tanto los compuestos bioactivos contenidos en esta raíz comestible juegan un papel importante en la promoción de la salud, al mejorar la función inmunológica, reducir el estrés oxidativo y el daño de los radicales libres, reduciendo el riesgo de enfermedades cardiovasculares (Vidal, et al., 2018).

4.8. Extracción asistida por ultrasonido

La extracción asistida por ultrasonido es considerada una técnica verde ya que ha demostrado reducir el consumo de tiempo, energía y disolventes orgánicos costosos necesarios en la operación, debido a la cavitación generada que permite la remoción de material, aumentando el área superficial disponible para la transferencia de masa de los solutos durante la extracción, la extracción asistida por ultrasonido es una técnica simple, segura, rápida, versátil, amigable con el ambiente y económica, que es fácil de implementar a nivel industrial y que permite mejorar la eficiencia de obtención de polifenoles (Ameer, Shahbaz, & Kwon, 2017).

En la extracción asistida por ultrasonido se utilizan ondas ultrasónicas las cuales son ondas de sonido de alta frecuencia entre los 20 kHz y los 2 MHz, ya que por encima de los 20 kHz

estas ondas de sonido son imperceptibles para adultos jóvenes sanos. Estas ondas sonoras tienen un impacto significativo sobre medios elásticos tales como los disolventes líquidos y los tejidos suaves de plantas (Panja, 2018).

Las altas frecuencias del ultrasonido actúan como lo haría un pistón sobre un medio, ya que las ondas sonoras cambian su forma al viajar a través del él, que retoma su forma original en ausencia de dichas ondas. En este proceso, se produce dos efectos, el de cavitación, el cual consiste en la formación de burbujas microscópicas que al colapsar liberan energía, creando zonas de alta presión y temperatura y el de fragmentación, donde la colisión entre las ondas ultrasónicas y las partículas sólidas puede generar una reducción del tamaño de partícula. Por lo tanto, en ambos efectos se fomenta la transferencia de masa (Torres, *et al.*, 2017).

Por otro lado, la sonocapilaridad y la sonoporación pueden mejorar la permeabilidad del líquido a través de los canales creados por la implosión de burbujas, provocando cambios en la permeabilidad de las membranas celulares, respectivamente, asimismo debido a los fenómenos de oscilación, el esfuerzo cortante puede provocar el colapso de las burbujas en el fluido (Chemat, *et al.*, 2017), en la siguiente figura se observa una representación de dichos fenómenos.

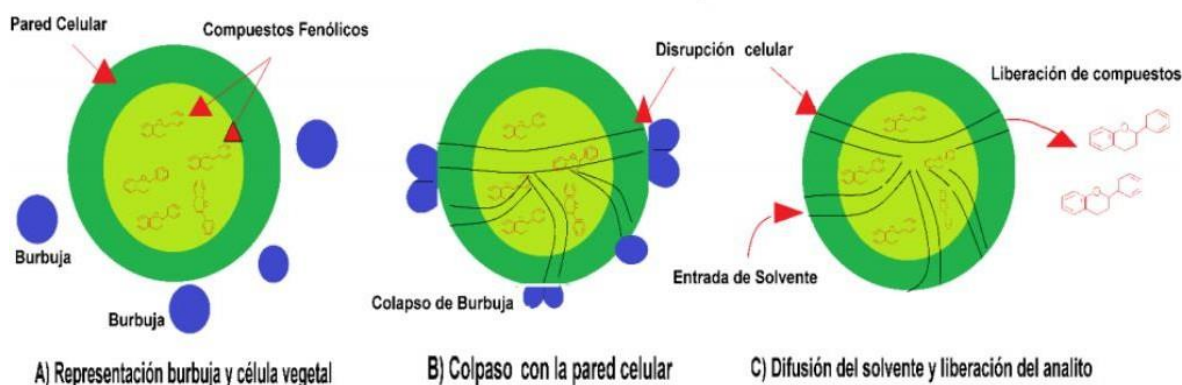


Figura 2. Gráfica del fenómeno de cavitación, colapso y liberación de compuestos a partir del material vegetal.
Fuente: (Panja, 2018).

Las principales características de las ondas ultrasónicas son: la longitud de la onda, que es la distancia entre dos puntos de rarefacción o compresión; la amplitud, que indica altura máxima de la onda; la frecuencia, expresada en Hertz (Hz), que es el número de ciclos por unidad de tiempo o, en otras palabras, el número de ondas propagadas en un segundo; la potencia, expresada en Watts (W), que es la relación entre la energía transportada y el tiempo considerado (Torres, *et al.*, 2017).

El efecto de la cavitación se puede describir en 4 etapas. En la primera etapa, al incidir las ondas ultrasónicas al medio, se generan las burbujas microscópicas en la superficie de la matriz a ser extraída. Posteriormente, las burbujas colapsan y liberan micro chorros a presión y con temperatura hacia la superficie. En el tercer paso, la matriz se rompe y el disolvente entra en contacto con los compuestos de interés contenidos en las células vegetales. Por último, los compuestos disueltos son liberados y transportados al grueso del disolvente (Panja, 2018). Este fenómeno puede ser apreciado en la siguiente figura.

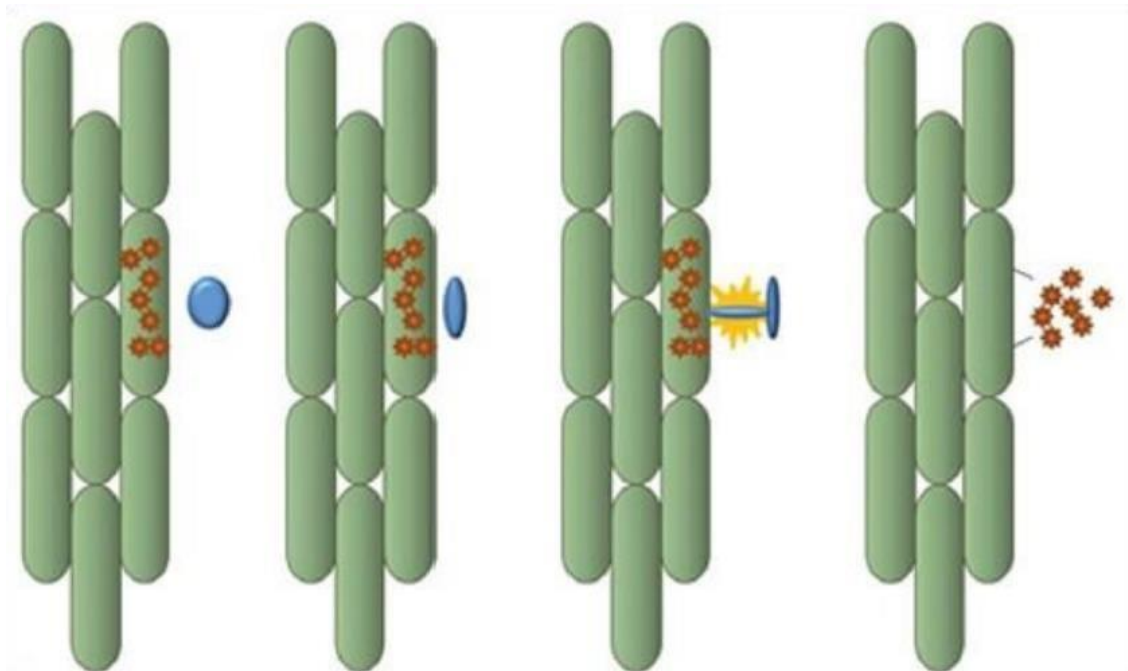


Figura 3. Etapas de la cavitación en un proceso de extracción de compuestos bioactivos a partir de una matriz vegetal. Fuente: (Panja, 2018).

4.8.1. Variables que afectan la extracción asistida por ultrasonido

La amplitud de la onda juega un papel importante en la intensificación de la extracción, ya que con su aumento también lo hace el número de ciclos de compresión y rarefacción de las ondas ultrasónicas que permite un mayor rendimiento de los compuestos de interés. Por otro lado, la frecuencia depende del equipo y se recomienda el uso de frecuencias no excesivamente altas dado que pueden degradar u oxidar los compuestos a ser extraídos al formar radicales hidroxilo altamente reactivos, por lo que se suele trabajar con frecuencias entre 20 kHz y 60 kHz (Medina, *et al.*, 2017).

4.9. Análisis sensoriales

Los análisis sensoriales son una parte fundamental en la evaluación de productos alimenticios, ya que permiten medir de manera objetiva la percepción de los consumidores sobre distintos atributos como el sabor, aroma, textura y color. En el caso de los colorantes naturales, estos análisis son especialmente relevantes dado que se busca garantizar que el producto final no solo sea atractivo visualmente, sino que también cumpla con las expectativas de los consumidores en términos de calidad y naturalidad (Osorio, 2019).

Para llevar a cabo un análisis sensorial se utilizan paneles de cata, compuestos por un grupo de personas entrenadas en la evaluación de diferentes atributos como sabor, textura, aroma y apariencia. Existen diferentes metodologías para realizar un análisis sensorial, entre las más comunes se encuentran la evaluación por escala hedónica, en la que se asigna una puntuación a cada atributo sensorial en función de su nivel de agrado, y la evaluación por perfil de sabor, que consiste en describir de forma detallada las características sensoriales de un producto (López & de Miguel, 2015).

Estos métodos permiten obtener información cuantitativa y cualitativa sobre las preferencias del consumidor, así como identificar posibles mejoras en la formulación o proceso de elaboración del producto (Osorio, 2019).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Lugar de la investigación

La presente investigación se llevará a cabo en Ecuador provincia de Loja en las instalaciones de la Universidad Nacional de Loja.

5.2. Sujetos de la investigación

5.2.1. Población

Se utilizará camote (*Ipomoea batatas*, L) de la variedad morada, proveniente de la provincia de Loja Ecuador.

5.2.2. Muestra

Se plantea utilizar como unidad de muestreo 100 gr. de cáscara de camote morado para cada uno de los 15 tratamientos evaluados; además el experimento tiene 3 repeticiones. Por lo tanto, se necesitan 4,500 gr. de cáscara de camote morado para la extracción del colorante para toda la investigación.

5.3. Materiales y equipo

Para el desarrollo de la presente investigación se emplearán los materiales y equipos descritos en la tabla 4.

Tabla 4. Materiales y equipo a utilizar en el trabajo de investigación

Materiales y equipos	Descripción
Tubos para centrífuga	Tubos de fondo cónico con graduaciones y paredes internas planas, utilizados para separar partículas de diferentes densidades mediante fuerzas centrífugas, empleados en el presente trabajo de investigación en la extracción asistida por ultrasonido en cada uno de los 15 tratamientos en estudio.
Bomba de vacío	Bomba de vacío de laboratorio marca Sartorius, capaz de crear suficiente vacío para la filtración al vacío y la transferencia simultánea del líquido filtrado y los desechos del mismo. Por lo cual se implementará en la filtración de los sobrenadantes en la extracción de antocianinas asistida por ultrasonido.
Reactivos químicos	Los reactivos a utilizar en presente trabajo de investigación serán: Etanol 96%, agua destilada, Ácido Clorhídrico al 37%, Cloruro de Potasio, Acetato de Sodio, Folin-Ciocalteu y Carbonato de Sodio al 7,5%. La implementación de dichos reactivos será necesaria para llevar a cabo de forma exitosa el proceso de extracción y determinación de antocianinas totales.
Espectrofotómetro	Miden la absorbancia de la luz en el rango ultravioleta-visible, generalmente entre 190 nm y 1100 nm. Implementado en la medición de absorbancia en los tratamientos para la determinación de antocianinas totales con el objetivo de determinar la estabilidad del color en la muestra evaluada.

Balanza analítica	Instrumento para medir la masa de las muestras con alta precisión.
Cronómetros	Dispositivos para medir el tiempo con precisión, para controlar el tiempo de sonicación o de extracción de antocianinas en los diferentes tratamientos evaluados.
Termómetro	Instrumento para medir la temperatura marca Taylor NO. 5, 775,488, utilizado para tomar medidas de temperatura en el entorno de estudio, con el objetivo de llevar un control preciso de la temperatura de cada uno de los tratamientos.
Equipo de nariz electrónica	Dispositivo electrónico diseñado para detectar y analizar aromas, se utiliza para complementar las pruebas sensoriales y analizar las muestras con diferentes porcentajes de antocianinas.
Centrífuga	Pone en rotación las muestras utilizando la fuerza centrífuga acelerar la decantación o la sedimentación de sus componentes o fases. Equipo de mucha importancia para la presente investigación en la extracción asistida por ultrasonido en los diferentes tratamientos en estudio.

Fuente: propia.

5.4. Método

Se empleará un método descriptivo (mixto) de orden transversal a escala de laboratorio, durante los meses de febrero a julio del año 2024.

5.4.1. Metodología

Se propone la implementación de un enfoque metodológico que consta de cuatro fases experimentales mediante las cuales se garantizará el cumplimiento de los objetivos fijados. A continuación, se detallada cada una de las cuatro fases contempladas.

Fase I. Obtención y acondicionamiento de la materia prima

Investigaciones previas apuntan al camote de variedad morada como una potencial fuente de compuestos bioactivos (Antocianinas en cascara y betacaroteno en su pulpa) por lo tanto se adquirirá esta variedad de camote, la cual será preparada adecuadamente con antelación para la realización de las diferentes pruebas y tratamientos, mediante el desarrollo de procesos de recepción, selección, lavado, desinfección, escaldado de la materia prima etc.

Fase II. Extracción de pigmento antocianina

En esta fase se realizarán todos los procedimientos pertinentes con el objetivo de obtener 15 diferentes tratamientos con el fin de extraer el pigmento, de esa manera se identificarán los mejores en cuanto a la cantidad de antocianinas y polifenoles obtenidos. En este contexto, para maximizar la cantidad y la calidad de los resultados se plantea implementar en el presente trabajo de investigación un método de extracción asistido por ultrasonido con el objetivo de facilitar la penetración del solvente en las muestras obteniendo de esta manera una mayor cantidad de polifenoles y antocianinas al final del proceso de extracción según lo propone (Mendoza, *et al.*, 2023).

Fase III. Incorporación del pigmento antocianina en yogur

Durante la fase tres las antocianinas extraídas se incorporarán o aplicaran en diferentes concentraciones a un yogur griego marca comercial Zeus, elaborado en Quevedo santo domingo Ecuador, formulando tres diferentes tratamientos más un tratamiento testigo al cual no se le adicionará colorante para posteriormente realizar las pruebas pertinentes.

Fase IV. Evaluación de las muestras obtenidas mediante diferentes tratamientos

En la fase cuatro, cada una de las muestras obtenidas se someterá a evaluación para determinar su aceptación mediante análisis sensoriales, asimismo se caracterizará la formula con mayor aceptación mediante pruebas bromatológicas y análisis fisicoquímicos.

Al final se compararán los resultados obtenidos en dichos análisis para identificar cual o cuales fueron los tratamientos que lograron las mejores propiedades sensoriales así como un mayor potencial antioxidante en comparación a una bebida testigo sin presencia del compuesto bioactivo antocianina. Por lo tanto al finalizar la cuarta etapa se tendrá la evidencia suficiente que confirme o descarte al camote como una fuente viable de antocianinas a ser aplicadas como colorante natural en yogur.

5.4.2. Variables de estudio

Las variables dependientes e independientes contempladas en el presente trabajo de investigación son las siguientes.

5.4.2.1. Variables dependientes:

- ✓ Contenido de antocianinas extraídas
- ✓ Polifenoles totales

5.4.2.2. Variables independientes:

- ✓ Tiempo de sonicación (tiempo de extracción)
- ✓ Temperatura de extracción
- ✓ Concentración del solvente Etanol

5.4.3. Diseño experimental en la extracción de colorante

Se empleará un diseño de Box-Behnken con tres niveles y tres factores, y se analizará con metodología de superficie de respuesta. Cada tratamiento contará con un mínimo de tres repeticiones. Las variables independientes serán; temperatura, tiempo de extracción y concentración de etanol. Las variables dependientes contempladas son; contenido de antocianinas y polifenoles totales (Mendoza, *et al.*, 2023).

Tabla 4. Diseño Box-Behnken para la extracción asistida

Tratamiento	Niveles		
	-1	0	+1
Temperatura (°C)	35	45	60
Tiempo (min)	20	25	30
Concentración etanol (%)	20	30	40

Fuente: (Mendoza, *et al.*, 2023) con ligeras modificaciones.

A continuación se puede apreciar la tabla correspondiente a las diferentes combinaciones o tratamientos a evaluar en la presente investigación, utilizando el diseño experimental descrito anteriormente.

Tabla 5. Diferentes tratamientos a evaluar para la extracción asistida por ultrasonido

Tratamientos	Concentración de etanol	Temperatura	Tiempo
1	-1	-1	0
2	1	-1	0
3	-1	1	0
4	1	1	0
5	-1	0	-1
6	1	0	-1
7	-1	0	1
8	1	0	1
9	0	-1	-1
10	0	1	-1
11	0	-1	1
12	0	1	1
13	0	0	0
14	0	0	0
15	0	0	0

*Los niveles (-1, 0, 1) corresponden a concentración de etanol (%) 20, 30, 40; temperatura (°C): 35, 45, 60; tiempo (min): 20, 25 y 30. Fuente: (Mendoza, *et al.*, 2023) con ligeras modificaciones.

5.4.4. Diseño experimental en la evaluación sensorial de yogur más colorante

Se implementará un Diseño de Bloques Completamente Balanceado, mediante 3 tratamientos más el control correspondientes siendo el bloque A el primer tratamiento (T1) contando con 120 ml yogur y 5% extracto de pigmento antocianina en su formulación, el bloque B será el segundo tratamiento (T2) con 120 ml yogur y 10% del extracto de pigmento antocianina en su formulación, el bloque C el tercer tratamiento (T3) contando con 120 ml yogur y 15% del extracto, finalmente el bloque D corresponderá al cuarto tratamiento (T4) siendo el tratamiento testigo conformado por 120ml de yogur sin pigmento.

Con este diseño experimental se estudiarán los atributos del yogur en cuanto al sabor, consistencia, aroma, color y aceptación general para cada uno de los cuatro tratamientos en estudio. A continuación se proporciona la tabla correspondiente al diseño experimental propuesto.

Tabla 5. Diseño de bloques completamente balanceado para los resultados de la evaluación sensorial

Tratamiento	Atributos				
	Aroma	Sabor	Consistencia	Color	Aceptación general
A (5% pigmento)	-	-	-	-	-
B (10% pigmento)	-	-	-	-	-
C (15% pigmento)	-	-	-	-	-
D (0% pigmento)	-	-	-	-	-

*Las letras A, B, C y D corresponden a los tratamientos T1, T2, T3 y T4 respectivamente. Las celdas con (-) nos indican el espacio que será cubierto por la media de cada uno de los puntajes brindados para los atributos en estudio de parte de los futuros consumidores en una escala del uno al nueve correspondiente a una escala hedónica de 9 puntos. Fuente: (Solorzano, *et al.*, 2023) con ligeras modificaciones.

5.4.5. Análisis estadístico

La optimización se llevará a cabo utilizando un análisis de maximización de multirrespuesta empleando Stat-Ease 360 (Serie N° 6388-2255-1949-EVAL). Los resultados de la evaluación sensorial se analizarán tomando en cuenta el cumplimiento de tres supuestos en cuanto a: normalidad (Prueba de Anderson-Darling), homocedasticidad, e independencia de residuos. Cuando no se cumpla con uno de los supuestos se aplicará una prueba no paramétrica de Friedman para determinar si existen diferencias significativas entre los tratamientos (Mendoza, *et al.*, 2023). Asimismo para corroborar los resultados se aplicará el método LSD de Fisher en la determinación de diferencias significativas para los tratamientos en estudio con un nivel de confianza del 95%.

5.4.6. Proceso de extracción del colorante.

El proceso de extracción se llevará a cabo siguiendo cada una de las siguientes etapas para garantizar la extracción exitosa de antocianinas a partir de la cascara de camote (*Ipomoea batatas*, L.).

5.4.6.1. Recepción de materia prima

Se gestionará la adquisición de la materia prima (camotes de la variedad morada) directamente desde el mercado local en la provincia de Loja Ecuador, teniendo en cuenta pesar la materia prima al momento de la recepción con la finalidad de determinar el rendimiento del proceso.

5.4.6.2. Selección

Esta operación se efectúa manualmente, con el fin de separar las raíces que presentan signos de deterioro o con indicios de pudrición. Por tanto se descartan aquellos camotes con signos de pudrición y contaminación microbiana.

5.4.6.3. Lavado y desinfección

De forma manual se realiza el lavado de la materia prima con abundante agua durante minutos, frotando los camotes con una esponja para vajilla, removiendo la tierra adherida a la superficie de los mismos.

Después del lavado, los camotes se sumergen durante cinco minutos en una solución desinfectante de 100 ppm de hipoclorito de sodio con el objetivo de disminuir la carga microbiana que permanece adherida a la superficie de los mismos. La solución de 100 ppm de hipoclorito de sodio se prepara diluyendo 2.5 ml de legía comercial con 4% de hipoclorito de sodio en un litro de agua potable.

5.4.6.4. Escaldado

Después del proceso de lavado y desinfección los camotes se someten a proceso de escaldado con agua en ebullición por 2 minutos para inactivar las enzimas.

5.4.6.5. Pelado

Este proceso se lleva a cabo utilizando un pelador doméstico y un cuchillo de acero inoxidable. Se extrae minuciosamente la cáscara, intentando no extraer demasiada pulpa de camote morado. Por 1000 gr de camote morado se puede extraer aproximadamente 114 gr de cáscara.

5.4.6.6. Pesado

Utilizando una balanza de precisión, se procede a pesar 100gr de cáscara de camote morado para cada uno de los 15 tratamientos.

5.4.6.7. Deshidratado

Se llevará a cabo utilizando una temperatura de 50 °C durante un tiempo de 6 a 12 horas aproximadamente y se determinará la humedad, por el método de secado con estufa.

5.4.6.8. Molido

Al finalizar el proceso de deshidratado las cascara secas se pulverizarán con ayuda de un molino, posteriormente las muestras obtenidas se almacenarán a temperatura ambiente en bolsa con cierre hermético (bolsa ziploc) hasta que sea el momento de realizar el siguiente proceso.

5.4.6.9. Homogeneización 1

Se prepararán 15 tratamientos por triplicado en fioas de 10 ml en las cuales el polvo de la cascara de camote se homogenizará con soluciones extractoras de 3 diferentes concentraciones de etanol, siendo la proporción de sólido a disolvente (1:20 p/v).

5.4.6.10. Lixiviación

Los tratamientos se someten a un proceso de lixiviación en un limpiador ultrasónico de 40 kHz a diferentes temperaturas y tiempo de extracción.

5.4.6.11. Centrifugado

Posteriormente se separa el extracto utilizando una centrifugadora a 5000 rpm durante 10 minutos a temperatura de 17 °C. Los sobrenadantes se filtrarán utilizando una bomba de vacío y papel filtro, las réplicas de cada tratamiento se combinarán en un matraz volumétrico de 50 ml y finalmente se almacenarán a 4 °C.

5.4.6.12. Homogeneización 2

Una vez ya obtenidos los parámetros óptimos de extracción con la proporción (1:20 p/v) se homogenizarán las muestras en un matraz volumétrico de 1000 ml, 50 g de polvo de la cascara de camote en 1000 ml de solución extractora óptima y se dejará en maceración por 5 horas.

5.4.6.13. Extracción por ultrasonido

Posteriormente, los tratamientos se separan en tubos para centrífuga de 15 ml en proporciones de 12 ml y se llevan a ultrasonido por el tiempo y temperatura óptima. Además, se debe centrifugar a 5000 rpm durante 10 minutos.

5.4.6.14. Filtrado al vacío

El extracto se filtrará al vacío en un matraz Kitazato usando un embudo Buchner y papel filtro N° 40.

5.4.6.15. Concentrado

Al finalizar el proceso de filtrado los tratamientos se someten a un proceso de concentración a 60°C utilizando un rotavapor a vacío a 70 rpm.

5.4.6.16. Almacenamiento

Finalmente, el extracto se almacena a 4 °C durante 24 horas para su posterior aplicación en una matriz alimentaria.

5.4.6.17. Diagrama de flujo

Todos los procesos descritos se pueden observar de forma esquemática en el siguiente diagrama de flujo.

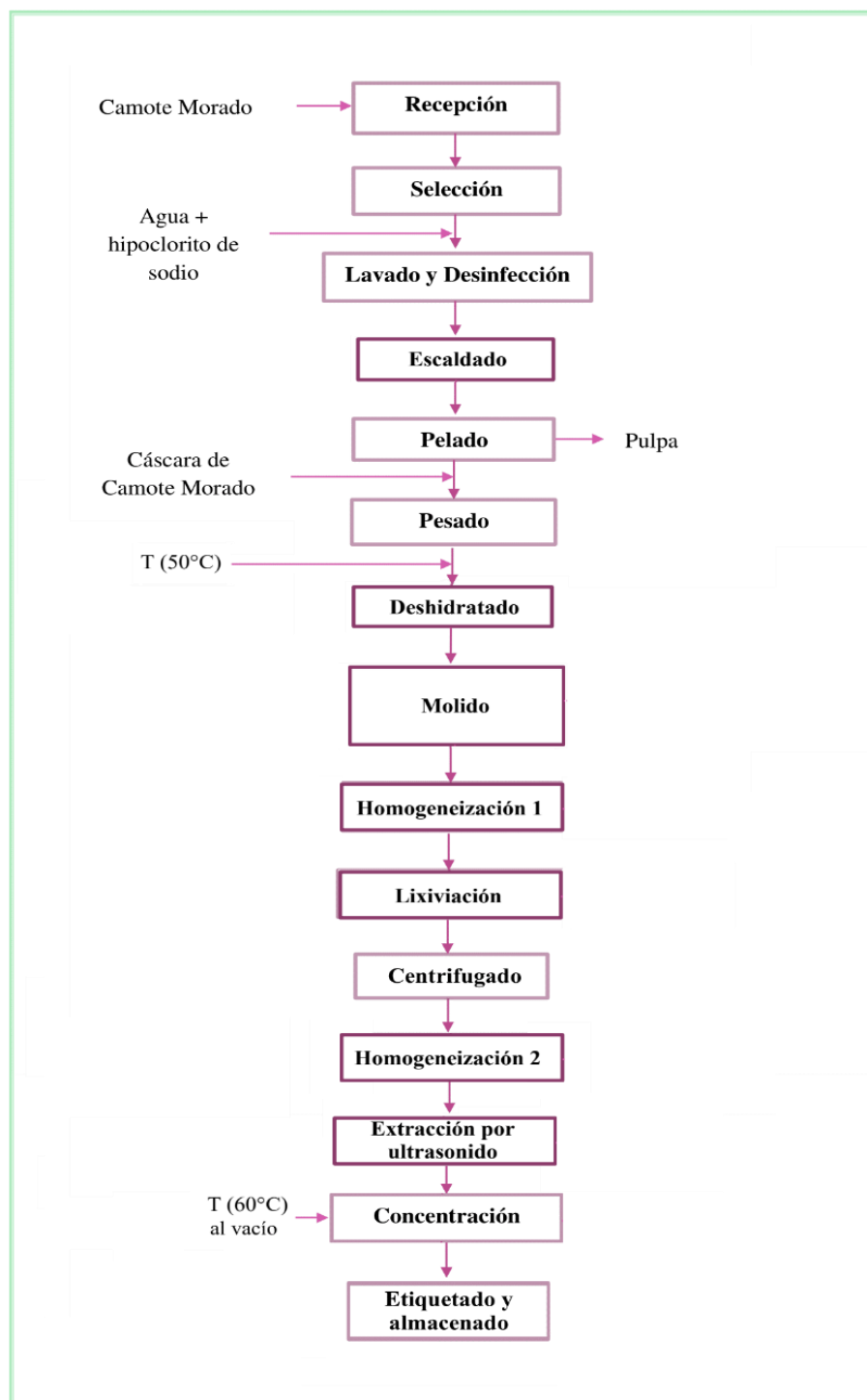


Figura 4. Diagrama de flujo del proceso de extracción de antocianinas de la cascara del camote morado.

5.4.7. Protocolo para determinación de antocianinas totales

Mediante el método de pH diferencial. Se prepararán dos soluciones buffer: cloruro de potasio de pH 1,0 (0,025 M) y acetato de sodio de pH 4,5 (0,4 M) en fioas de 50ml, recubriéndolas con hojas de aluminio para impedir la entrada de luz y se almacenarán a 4°C. El pH de ambas soluciones se ajustará adicionando HCl al 37%.

Posteriormente las muestras de extracto se diluyen a (1:80 v/v) con cada solución tampón (el factor de dilución se determina en función de la absorbancia intentando que no sobrepase de 0,7 ni menos de 0nm). Luego se medirá la absorbancia para el pH 1 a 510 nm y 700 nm utilizando un espectrofotómetro. Así mismo, se debe determinar la absorbancia para el pH 4,5 a 510 nm y 700 nm y cada lectura tendrá que realizarse por triplicado. Con estas lecturas se calcula la absorbancia a partir de: $A = (A_{510\text{ nm}} - A_{700\text{ nm}})_{\text{pH}=1} - (A_{510\text{ nm}} - A_{700\text{ nm}})_{\text{pH}=4,5}$.

Una vez calculada la absorbancia, se procede a calcular la cantidad de antocianinas monomérica: Antocianina monomérica (mg/L) = $(A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1000) / (\epsilon \times 1)$ Donde: MW = peso molecular (449,2); ϵ = Coeficiente de extinción molar (26900); DF = factor de dilución (80 para este caso); A = Absorbancia de la muestra calculada Debido a que la muestra es desconocida se expresó la concentración final del pigmento como Cianidina -3 – glucósido.

5.4.8. Procedimiento para la determinación de polifenoles totales

El contenido fenólico total se determinará por el método espectrofotométrico con el reactivo Folin-Ciocalteu²⁰. Tomando la muestra de extracto de cada tratamiento y diluyendo a 1:80 v/v en el supuesto de que el extracto tenga un color muy intenso.

De esta manera se procede a medir por duplicado la absorbancia a 765 nm. Posteriormente se calcula la cantidad de polifenoles totales mediante la ecuación: Polifenoles totales ($\mu\text{g/g}$) = $\bar{A} / (m \times D)$ (3) Donde: $\bar{A}$ = absorbancia promedio; m = pendiente de la curva de calibración

(mL/ μ g); D = Dilución de extracto (0,5g/ml en p/v). Los resultados se expresarán como μ g equivalentes de ácido gálico / g de peso fresco.

5.4.9. Incorporación del colorante natural en yogur

Al finalizar los anteriores procesos, las antocianinas extraídas a través del tratamiento con mejores resultados serán incorporadas en diferentes concentraciones a un yogur griego marca comercial Zeus, elaborado en Quevedo santo domingo Ecuador. Las concentraciones para los 4 diferentes tratamientos son las siguientes:

El primer tratamiento contará con 120 ml yogur y 5% extracto de pigmento antocianina, el segundo tratamiento contará con 120 ml yogur y 10% del extracto de pigmento antocianina, el tercer tratamiento contará con 120 ml yogur y 15% del extracto, finalmente el cuarto tratamiento corresponderá al tratamiento testigo conformado por 120ml sin adicionar pigmento.

VI. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

[illegible]

VII. PRESUPUESTO

Gastos personales			
Descripción		Costo estimado (L)	
Alimentación		20,000 L	
Transporte		30,000 L	
Vivienda		10,000 L	
Gastos por compra de materiales y equipo			
Descripción	Cantidad	Costo por unidad	Costo estimado (L)
Camote morado	42 kg	55 L por cada kg	2,310 L
Etanol al 96%	2Ltrs	300 L por cada Litro	600 L
Implementos de laboratorio	Equipo, reactivos materiales, etc	7,000 L	7, 000 L
Total presupuesto			69,910 L

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Ahmadiani, N., Robbins, R. J., Collins, T. M., & Giusti, M. M. (2014). Anthocyanins contents, profiles, and color characteristics of red cabbage extracts from different cultivars and maturity stages. *Journal of agricultural and food chemistry*, 7524-7531.
- Albuquerque, B. R., Oliveira, M. B., Barros, L., & Ferreira, I. C. (2021). Could fruits be a reliable source of food colorants? Pros and cons of these natural additives. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 805; 835.
- Ameer, K., Shahbaz, H. M., & Kwon, J. H. (2017). Green extraction methods for polyphenols from plant matrices and their byproducts. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 295; 315.
- Ayala Jara, C. I., Castillo Saavedra, E. F., Alfaro Avalos, K. Y., Pilar Aspiros Freyre, E., & Seclén Ayala, L. E. (2016). Obtención de un colorante natural de las semillas de *Bixa orellana* L.(*Bixaceae*) como alternativa para uso cosmético. *EBSCO*.
- Belmonte, J., Arroyo, I., Vázquez, M., Cruz, D., & Peña, E. (2016). Colorantes artificiales en alimentos. *Revista naturaleza y tecnologia*, 24; 38.
- Carmona, I. (2013). De colorantes sintéticos a naturales en la industria alimentaria. *Agrimundo*, 1; 6.
- Carocho, M., Morales, P., & Ferreira, I. C. (2015). Natural food additives: Quo vadis? *Trends in food science & technology*, 284; 295.
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. S., & Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and application. *Ultrasonics sonochemistry*, 540; 560.

- Escudero-Gilete, M. L., & Romero, I. M. (2017). Colorantes alimentarios. *Aditivos alimentarios*, 109; 142.
- Floríndez Chávez, G. E. (2023). Obtención del extracto y su rendimiento de antocianinas en el camote morado CIP 441700 (*Ipomoea batatas*) utilizando tres disolventes diferentes de extracción. Cajamarca; Perú.
- Hidalgo Olmedo, B. G. (2022). Uso de colorantes alimentarios (artificiales y naturales) y su impacto en la salud: revisión de la literatura. Riobamba; Ecuador.
- Kamiloglu, S., Capanoglu, E., Grootaert, C., & Van Camp, J. (2015). Anthocyanin absorption and metabolism by human intestinal Caco-2 cells. *International journal of molecular sciences*, 21555; 21574.
- Kraser, R. B., & Hernández, S. A. (2020). Colorantes alimentarios y su relación con la salud: ¿cómo abordar esta problemática desde el estudio de las disoluciones? *Eureka*, 1; 15.
- Leon, E., & Chávez, N. (2019). Perú nutrición y salud. *USMP*, 55; 434.
- Lim, H. S., Kim, M., Lee, G., & Shin, J. W. (2019). Dietary exposure assessment of synthetic food colours using analytical concentrations in Korea. *Food Additives & Contaminants*, 1453; 1466.
- López-Menchero, T. B., & de Miguel, J. D. (2015). Influencia de la marca de distribuidor en la evaluación del consumidor hacia productos de alimentación. *Esic Market Economics and Business Journal*, 371; 392.
- Martínez Rivera, H. (2015). Técnica de análisis espectrofotométrica de antocianinas en materias primas de la región de Ayacucho. Ayacucho; Perú.
- Medina-Torres, N., Ayora-Talavera, T., Espinosa-Andrews, H., Sánchez-Contreras, A., & Pacheco, N. (2017). Ultrasound assisted extraction for the recovery of phenolic compounds from vegetable sources. *Agronomy*, (3); 47.

- Mendoza, E., Marcía, J., Chuquilín-Goicochea, R., López, J., & Areche, F. (2023). Obtención de un colorante natural a partir *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón para su aplicación en yogur. *Bionatura*, (2); 38.
- Mercola, J. (2018). Peligros de los colorantes artificiales (en línea). Recuperado el 10 de Mayo de 2024. Obtenido de <https://articulos.mercola.com/sitios/articulos/archivo/2016/01/04/esta-comientos-colorantes-toxicos.aspx>.
- Oplatowska-Stachowiak, M., & Elliott, C. T. (2017). Food colors: Existing and emerging food safety concerns. *Critical reviews in food Science and Nutrition*, 524; 548.
- Osorio-Oviedo, Á. A. (2019). Pruebas de análisis sensorial para el desarrollo de productos de cereales infantiles en Venezuela. *Publicaciones en Ciencias y Tecnología*, 27; 37.
- Panja, P. (2018). Green extraction methods of food polyphenols from vegetable materials. *Current Opinion in Food Science*, 173; 182.
- Pérez-Gálvez, A., Viera, I., & Roca, M. (2020). Development of an accurate and direct method for the green food colorants detection. *Food research international*, 109484.
- Reyes-Landa, G., Granados-Balbuena, S., García-Meza, M., Tapia-López, L., & Ocaranza-Sánchez, E. (2023). Antocianinas y La Magia Del Color: Fuenntes, Beneficios y Aplicaciones. *Frontera Biotecnológica*, 5; 8.
- Rodriguez-Amaya, D. B. (2016). Natural food pigments and colorants. *Current Opinion in Food Science*, 20; 26.
- Salas Aquice, D. P., & Tovalino Párraga, S. J. (2018). Obtencion de antocianinas de papa nativa “Yawar Wayku”(*Solanum stenotomum*) para la elaboracion de un colorante natural aplicable a alimentos. Lima; Perú.
- Siva, R. (2014). Food colourants and health issues: are we aware? *Current Science*, 143; 144.
- Solorzano, L., Marcia, J., Chuquilín, R., Areche, F., Herrera, A., & Ruiz, J. (2023). Evaluación de la Pulpa de Macha Macha (*Vaccinium floribundum* Kunth), en el Desarrollo de una Bebida Isotónica. *Bionatura*, (4); 38.

- Thiesen, L. A., Pinheiro, M. V., Holz, E., Fontana, D. C., & dos Santos, J. (2017). Correlação de Pearson entre pigmentos fotossintetizantes e fitomassa de plantas de *Aloysia triphylla*. *Journal of Environmental Analysis and Progress*, 249; 257.
- Vidal, A. R., Zaucedo-Zuñiga, A. L., & de Lorena Ramos-García, M. (2018). Propiedades nutrimentales del camote (*Ipomoea batatas* L) y sus beneficios en la salud humana. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*.
- Xu, J., Su, X., Lim, S., Griffin, J., Carey, E., Katz, B., & Wang, W. (2015). Characterisation and stability of anthocyanins in purple-fleshed sweet potato. *Food chemistry*, 90; 96.
- Yslas González, K. (2018). Estudio del efecto de la luz solar y del peróxido de hidrógeno en la degradación de un colorante usando un catalizador de cobre y cobalto. Toluca; México .
- Yusuf, M., Shabbir, M., & Mohammad, F. (2017). Natural colorants: Historical, processing and sustainable prospects. *Natural products and bioprospecting*, 123; 145.
- Zapata, L. M. (2014). Obtención de extracto de antocianinas a partir de arándanos para ser utilizado como antioxidante y colorante en la industria alimentaria. Valência.

ANEXOS

Anexo 1. Cuestionario de evaluación sensorial

Reciban un cordial saludo, el objetivo del presente estudio tiene como fin evaluar las características sensoriales de cuatro formulaciones de yogur, para ello se le solicita nos colabore respondiendo una serie de preguntas sobre cada tipo muestra.

DATOS GENERALES

EDAD	
SEXO	

INDICACIONES

Frente a usted se encuentran cuatro muestras de barras nutritivas, las cuales deben ser evaluadas según el nivel de agrado que posee cada uno de sus atributos. Se le solicita marcar con una X el nivel de escala que usted considera que posee el producto, siendo 9 el mayor puntaje y 1 el menor.

Podrá evaluar una muestra a la vez, analizando en primer lugar el color, luego el aroma y por último el sabor y la textura. Para el caso del sabor, le pedimos utilice un borrador que consiste en tomar un poco de agua purificada, comer un trozo de galleta simple y posteriormente tomar nuevamente un sorbo de agua purificada, previo al análisis entre las muestras.

Puntaje	Significado
1	Me disgusta muchísimo
2	Me disgusta mucho
3	Me disgusta bastante
4	Me disgusta ligeramente
5	Ni me gusta ni me disgusta
6	Me gusta ligeramente
7	Me gusta bastante
8	Me gusta mucho
9	Me gusta muchísimo

MUESTRA

781

Atributo	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Color									
Aroma									
Sabor									
Textura									

Antes de analizar la siguiente muestra, por favor limpie su paladar con galleta simple y agua, para borrar el sabor de la muestra anterior.

MUESTRA

687

Atributo	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Color									
Aroma									
Sabor									
Textura									

Antes de analizar la siguiente muestra, por favor limpie su paladar con galleta simple y agua, para borrar el sabor de la muestra anterior.

MUESTRA

213

Atributo	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Color									
Aroma									
Sabor									
Textura									

Antes de analizar la siguiente muestra, por favor limpie su paladar con galleta simple y agua, para borrar el sabor de la muestra anterior.

MUESTRA

751

Atributo									
Color									
Aroma									
Sabor									
Textura									

Exprese su **INTENCIÓN DE COMPRA**, marcando con una X

PRODUCTO	SI	NO
781		
687		
213		
751		

¡MUCHAS GRACIAS!

Anexo 2. Orden de servido de las muestras durante el análisis sensorial

Código	Formulación	Letra
	Pigmento (Antocianina)	
781	5%	A
687	10%	B
213	15%	D
751	Muestra testigo	C

JUEZ	ORDEN DE SERVIDO				COMBINACIONES
1	781	687	751	213	ABCD
2	781	687	213	751	ABDC
3	781	213	687	751	ADBC
4	781	213	751	687	ADCB
5	781	751	213	687	ACDB
6	781	751	687	213	ACBD
7	687	781	213	751	BADC
8	687	781	751	213	BACD
9	687	213	781	751	BDAC
10	687	213	751	781	BDCA
11	687	751	781	213	BCAD
12	687	751	213	781	BCDA
13	213	687	751	781	DBCA
14	213	687	781	751	DBAC
15	213	751	687	781	DCBA
16	213	751	781	687	DCAB
17	213	781	687	751	DABC
18	213	781	751	687	DACB

19	751	687	781	213	CBAD
20	751	687	213	781	CBDA
21	751	781	687	213	CABD
22	751	781	213	687	CADB
23	751	213	687	781	CDBA
24	751	213	781	687	CDAB
25	781	687	751	213	ABCD
26	781	687	213	751	ABDC
27	781	213	687	751	ADBC
28	781	213	751	687	ADCB
29	781	751	213	687	ACDB
30	781	751	687	213	ACBD
31	687	781	213	751	BADC
32	687	781	751	213	BACD
33	687	213	781	751	BDAC
34	687	213	751	781	BDCA
35	687	751	781	213	BCAD
36	687	751	213	781	BCDA
37	213	687	751	781	DBCA
38	213	687	781	751	DBAC
39	213	751	687	781	DCBA
40	213	751	781	687	DCAB
41	213	781	687	751	DABC
42	213	781	751	687	DACB
43	751	687	781	213	CBAD
44	751	687	213	781	CBDA
45	751	781	687	213	CABD
46	751	781	213	687	CADB
47	751	213	687	781	CDBA
48	751	213	781	687	CDAB

49	781	687	751	213	ABCD
50	781	687	213	751	ABDC
51	781	213	687	751	ADBC
52	781	213	751	687	ADCB
53	781	751	213	687	ACDB
54	781	751	687	213	ACBD
55	687	781	213	751	BADC
56	687	781	751	213	BACD
57	687	213	781	751	BDAC
58	687	213	751	781	BDCA
59	687	751	781	213	BCAD
60	687	751	213	781	BCDA
61	213	687	751	781	DBCA
62	213	687	781	751	DBAC
63	213	751	687	781	DCBA
64	213	751	781	687	DCAB
65	213	781	687	751	DABC
66	213	781	751	687	DACB
67	751	687	781	213	CBAD
68	751	687	213	781	CBDA
69	751	781	687	213	CABD
70	751	781	213	687	CADB
71	751	213	687	781	CDBA
72	751	213	781	687	CDAB
73	781	687	751	213	ABCD
74	781	687	213	751	ABDC
75	781	213	687	751	ADBC
76	781	213	751	687	ADCB
77	781	751	213	687	ACDB
78	781	751	687	213	ACBD

79	687	781	213	751	BADC
80	687	781	751	213	BACD
81	687	213	781	751	BDAC
82	687	213	751	781	BDCA
83	687	751	781	213	BCAD
84	687	751	213	781	BCDA
85	213	687	751	781	DBCA
86	213	687	781	751	DBAC
87	213	751	687	781	DCBA
88	213	751	781	687	DCAB
89	213	781	687	751	DABC
90	213	781	751	687	DACB
91	751	687	781	213	CBAD
92	751	687	213	781	CBDA
93	751	781	687	213	CABD
94	751	781	213	687	CADB
95	751	213	687	781	CDBA
96	751	213	781	687	CDAB
97	781	687	751	213	ABCD
98	781	687	213	751	ABDC
99	781	213	687	751	ADBC
100	781	213	751	687	ADCB