



UNIVERSIDAD TÉCNICA “LUIS VARGAS TORRES” DE ESMERALDAS
FACULTAD DE INGENIERÍAS
CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA

**Trabajo de Integración Curricular previo a la obtención del título de Ingeniera
Química**

**EXTRACCIÓN DE ANTOCIANINAS A PARTIR DE MORA (*Morus nigra* +
Morus rubra) Y SU APLICACIÓN COMO COLORANTE NATURAL PARA
PRODUCTOS ALIMENTICIOS.**

AUTORA: DEMERA YÉPEZ MÓNICA MISHELLE

Esmeraldas – Ecuador

2022



UNIVERSIDAD TÉCNICA “LUIS VARGAS TORRES” DE ESMERALDAS

FACULTAD DE INGENIERÍAS

CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE INGENIERA QUÍMICA

TÍTULO DEL PROYECTO:

**EXTRACCIÓN DE ANTOCIANINAS A PARTIR DE MORA (*Morus nigra* +
Morus rubra) Y SU APLICACIÓN COMO COLORANTE NATURAL PARA
PRODUCTOS ALIMENTICIOS.**

AUTORA:

DEMERA YÉPEZ MÓNICA MISHELLE

DIRECTOR: Lic. JUAN ENRIQUE TACORONTE MORALES, Dr.C

ESMERALDAS - ECUADOR

2022

DECLARACIÓN DE DERECHOS DE AUTORÍA

Yo, **Demera Yépez Mónica Mishelle** con **C.C. 085025682-7**, declaro bajo juramento que el proyecto del Trabajo de Integración Curricular descrito, es de mi autoría y que ninguna otra persona o profesional lo ha presentado previamente, y que he consultado y referenciado todas las bibliografías que se anexan en este documento.

En la presente declaración apruebo mis derechos de autonomía intelectual correspondiente de este proyecto, a la Facultad de Ingeniería y Tecnologías y la Carrera de Ingeniería Química, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, con la aprobación del **Decreto N° 508 y Registro Oficial N° 320** por la normativa institucional vigente.

Demera Yépez Mónica Mishelle

AUTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

CI. 085025682-7

Contacto: 0988836361

monica.demera.yeppez@utelvt.edu.ec

CERTIFICACIÓN

Yo, **Juan Enrique Tacoronte Morales**, en mi calidad de Director del Trabajo de Integración Curricular, nombrado por el Consejo de Facultad, de la Facultad de Ingenierías, de la Universidad Técnica “Luis Vargas Torres” de Esmeraldas.

CERTIFICO:

Que he analizado el Proyecto de investigación, cuyo tema es **“EXTRACCIÓN DE ANTOCIANINAS A PARTIR DE MORA (*Morus nigra* + *Morus rubra*) Y SU APLICACIÓN COMO COLORANTE NATURAL PARA PRODUCTOS ALIMENTICIOS”**, presentado por la estudiante **DEMERA YÉPEZ MÓNICA MISHELLE**, con C.C. 085025682-7, como requisito previo a la obtención del Título de INGENIERA QUÍMICA.

Ing. Juan Enrique Tacoronte Morales.

TUTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Contacto: 0991702915

juan.tacaronte.morales@utelvt.edu.ec

TRIBUNAL EXAMINADOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN
FACULTAD DE INGENIERÍAS
CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA

Los miembros del tribunal del Proyecto de Trabajo de Integración Curricular titulado:
“EXTRACCIÓN DE ANTOCIANINAS A PARTIR DE MORA (*Morus nigra* + *Morus rubra*) Y SU APLICACIÓN COMO COLORANTE NATURAL PARA PRODUCTOS ALIMENTICIOS”, y su propuesta.

Elaborado por **DEMERA YÉPEZ MÓNICA MISHELLE**, como requisito previo para la obtención del Título de Ingeniera Química, una vez evaluado lo aprueban.

Lic. MARIBEL CUELLO PÉREZ, Dra. C.

MIEMBRO

Ing. CARLA BERNAL VILLAVICENCIO MSc.

MIEMBRO

Ing. MARÍA INDELIRA MÁRQUEZ ALCÍVAR, MSc.

MIEMBRO

CESIÓN DE DERECHO DE AUTOR

Dr. GIRARD VERNAZA ARROYO PhD.

**RECTOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA “LUIS VARGAS TORRES” DE
ESMERALDAS**

Mediante el presente documento, libre y voluntariamente, procedemos hacer la entrega de la Cesión de Derechos de Autoría del proyecto de investigación realizado como requisito previo para la obtención del Título de Tercer Nivel, cuyo tema fue: **“EXTRACCIÓN DE ANTOCIANINAS A PARTIR DE MORA (*Morus nigra* + *Morus rubra*) Y SU APLICACIÓN COMO COLORANTE NATURAL PARA PRODUCTOS ALIMENTICIOS”,** y que corresponde a la Facultad de Ingenierías.

Esmeraldas, septiembre del 2022.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer primero a Dios por permitir tener y disfrutar a mi familia, gracias a mi familia por apoyarme en todo, a mi novio Adrián García Quiñonez quien con su ayuda he podido concluir con mi tesis, gracias a la vida porque cada día me demuestra lo hermosa que es y lo justa que puede llegar a ser.

Finalmente quiero expresar mi agradecimiento a la Universidad Técnica “Luis Vargas Torres”, a la Facultad de Ingenierías y Tecnologías, y a los docentes de la Carrera de Ingeniería Química por la enseñanza, la dedicación y los valiosos conocimientos que me permitieron crecer a diario como profesional, y de manera especial, a Juan Tacoronte, tutor de este proyecto por su guía y predisposición.

Les agradezco y hago presente mi gran afecto a ustedes, mi linda familia.

Mónica Demera Yépez.

DEDICATORIA

La presente Tesis está dedicada a Dios, ya que gracias a él he logrado concluir mi carrera.

A mis padres y hermanos, porque ellos siempre han sido un pilar fundamental en mi formación como profesional, por brindarme la confianza, consejos, oportunidad y recursos para lograrlo, quienes con sus palabras de aliento no me dejaban decaer para que siguiera adelante y sea perseverante y cumpla con mis ideales.

A mis abuelitos paternos y maternos, aunque ya no estén con nosotros, pero fueron también los que motivaron para cumplir este sueño.

A mi novio Adrián García Quiñonez gracias por estar siempre en esos momentos difíciles brindándome su ayuda, amor, paciencia y comprensión.

A mis amigos, compañeros y a todas aquellas personas que de una u otra manera han contribuido para el logro de mis objetivos.

Gracias a todos.

Mónica Demera Yépez.

ÍNDICE

DECLARACIÓN DE DERECHOS DE AUTORÍA	1
CERTIFICACIÓN	2
TRIBUNAL EXAMINADOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN FACULTAD DE INGENIERÍAS CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA	3
CESIÓN DE DERECHO DE AUTOR.....	4
AGRADECIMIENTOS	5
DEDICATORIA	6
ÍNDICE	7
RESUMEN	11
SUMMARY	12
INTRODUCCIÓN	13
Presentación de la investigación	13
Planteamiento del problema.....	15
Justificación	16
Objetivos	17
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO	18
1.1. Antecedentes	18
1.2. Bases teóricas científicas	20
Química de productos naturales aislados a partir de extractos botánicos acuosos y alcohólicos.	20
Mora.....	21
Antocianinas	26
Cromatografía en papel.....	35

ISO 22000: SISTEMA DE GESTIÓN DE SEGURIDAD ALIMENTARIA (SGSA)	37
1.3. Marco Legal	38
CAPITULO II: METODOLOGÍA	40
2.1. Descripción y caracterización del lugar	40
2.2. Tipo de investigación	40
2.3. Métodos y técnicas.....	41
2.4. Población, muestra y muestreo	46
2.5. Técnicas de procesamiento para la obtención de antocianinas.....	46
2.6. Normas éticas.....	47
CAPÍTULO III: RESULTADOS.....	48
3.1. Análisis e interpretación de resultados	48
CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN	55
CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	57
5.1. CONCLUSIONES	57
5.2. RECOMENDACIONES.....	58
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
ANEXOS	65

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Etapas de la Química de los Productos Naturales conducentes a la obtención de un compuesto de aplicación biotecnológica (Pomilio, 2012).....	20
Figura 2 Morus rubra y Morus nigra	21
Figura 3 Ruta del origen de la mora en América.....	22
Figura 4 Ión flavilio de las antocianinas.....	26
Figura 5 Estructura de las antocianinas.	28
Figura 6 Montaje Soxhelt a nivel laboratorio.....	34

Figura 7 Cromatografía en papel	36
Figura 8 Cálculo de Rf	37
Figura 9 Presencia de Fenolatos Alcalinos.....	44
Figura 10 Recorrido de la muestra.	45
Figura 11 Características organolépticas de las antocianinas en el yogurt natural.	46
Figura 12 Puntos del Rf.....	51
Figura 13 Tiempo 5 minutos	53
Figura 14 Tiempo 10 minutos	53
Figura 15 Tiempo 15 minutos	54

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Países exportadores de mora fresca 2020.....	23
Tabla 2 Países importadores de mora fresca 2020	23
Tabla 3 Clasificación taxonómica de la Morus rubra.....	24
Tabla 4 Clasificación taxonómica de la Morus nigra.	24
Tabla 5 Estructura de las antocianinas.	28
Tabla 6 Punto de ebullición de solventes(Nuñez, 2012)	33
Tabla 7 Volúmenes de a extracción a baño maría.	48
Tabla 8 Método por extracción Soxhlet	48
Tabla 9 Variación de color en los extractos a baño maría en tiempo 5 minutos.....	49
Tabla 10 Variación de color en los extractos a baño maría en tiempo 10 minutos.	49
Tabla 11 Variación de color en los extractos a baño maría en tiempo 15 minutos.	50
Tabla 12 Resultados de Rf en el tiempo de 5 minutos.	51
Tabla 13 Resultados de Rf en el tiempo de 10 minutos.	52
Tabla 14 Resultados de Rf en el tiempo de 15 minutos.	52

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Deshidratado y triturado de las moras.	66
Anexo 2 Procedimiento de baño maría.....	66
Anexo 3 Envasado de los extractos a los distintos tiempos.	66
Anexo 4 Determinación de colores a distintos tiempos.	67
Anexo 5 Toma de muestras y colocación de los reactivos.	67
Anexo 6 Lavado de materiales a utilizar.	67
Anexo 7 Toma de muestras para hacer la cromatografía.	67
Anexo 8 Colocación del papel en la cámara cromatográfica con el solvente y recorrido de los extractos.....	68
Anexo 9 Aplicación de los puntos de muestras al papel.	68
Anexo 10 Medición en cada punto.	69
Anexo 11 Materiales a utilizar para ver las características organolépticas.	70
Anexo 12 Toma de muestra de antocianina.....	70
Anexo 13 Puesta de antocianinas al yogurt natural.....	70
Anexo 14 Resultado final.	71

RESUMEN

Hoy en día dentro de las industrias de alimentos se utilizan habitualmente colorantes, los cuales son sustancias de origen natural o artificial, que se utilizan para aumentar el color de los alimentos, ya sea porque el alimento pierde su color durante su procesamiento industrial, o para hacerlo más agradable a la vista y más apetecible para los consumidores. Al obtener colorantes naturales, el sector de cultivos de mora tendrá grandes beneficios, debido a que el desarrollo de esta investigación se valoró como una nueva alternativa de materia prima para la extracción de colorantes naturales en productos alimenticios a la mora negra o también conocida por su nombre científico *morus nigra*. En este proyecto de tesis se detallará varios aspectos importantes de las antocianinas, desde su origen hasta la extracción, a su vez se propone extraer las antocianinas para la utilización de colorante natural en productos alimenticios. El método que se utilizó para la extracción es baño maría donde se utilizaron 3 tipos de muestras en tiempos de 5, 10 y 15 minutos, además, se conservaron a refrigeración de 4°C y de esta manera cumplir los objetivos planteados. Los resultados se obtuvieron mediante análisis de variación de color, cromatografía de papel y detallando las características organolépticas del producto final de las antocianinas en el yogurt natural. De esta manera se concluye que el proceso ofrece un mejor rendimiento e intensidad del colorante, corresponde a la extracción asistida por baño maría en la cual la muestra ha sido previamente liofilizada, resultado el cual fue relevante.

Palabras claves: Antocianinas; extracción; cromatografía de papel; variación de color; colorantes naturales.

SUMMARY

Nowadays within the food industries are commonly used dyes, which are substances of natural or artificial origin, which are used to increase the color of food, either because the food loses its color during its industrial processing, or to make it more pleasing to the eye and more palatable to consumers. By obtaining natural dyes, the blackberry crop sector will have great benefits, because the development of this research was valued as a new raw material alternative for the extraction of natural dyes in food products to the black blackberry or also known by its scientific name *morus nigra*. This thesis project will detail several important aspects of anthocyanins, from their origin to extraction, in turn it is proposed to extract anthocyanins for the use of natural dye in food products. The method that was used for the extraction is a water bath where 3 types of samples were used in times of 5, 10 and 15 minutes, in addition, they were kept at 4°C cooling and in this way meet the objectives set. The results were obtained by color variation analysis, paper chromatography and detailing the organoleptic characteristics of the final product of anthocyanins in natural yogurt. In this way it is concluded that the process offers a better performance and intensity of the dye, corresponds to the extraction assisted by water bath in which the sample has been previously freeze-dried, result which was relevant.

Palabras claves: Anthocyanins; extraction; paper chromatography; color variation; natural dyes.

INTRODUCCIÓN

Presentación de la investigación

En esta tesis de investigación se detallará varios aspectos importantes desde su origen hasta la extracción de antocianina de moras. Según la literatura publicada por (Moraes, Débora P., et al., 2021) menciona que el perfil mineral de las frutas está aliado a su valor nutricional, aunque los estudios sobre la influencia de los cultivares en el perfil de estos micronutrientes en las moras son escasos. Dentro de estas frutas por lo general se evalúan catorce minerales (Al, Ba, Ca, Cu, Fe, Cr, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Sr y Zn), y los macrominerales fueron: potasio (la mayoría), calcio, magnesio y sodio.(Moraes et al., 2021)

Las antocianinas se habían observado durante siglos como "*savia celular de color*". En 1835 el botánico alemán Ludwig Marquart les dio su nombre, derivando antocianina del griego *anthos*, que significa flor, y *kyanos*, que significa azul. Muchos conceptos erróneos de la antigüedad sobre la función de la antocianina datan de estas primeras observaciones, en particular que estos pigmentos surgen de la descomposición de la clorofila durante el otoño. (Willstätter, 1916)

Dado lo llamativo y atractivo que es el follaje rojo, puede parecer desconcertante que los botánicos permanecieran ignorantes sobre el fenómeno durante tanto tiempo. Hay varias razones para esto. Primero, debido a que las antocianinas son responsables de los colores de las frutas y flores, así como de las hojas, era natural concentrarse en la pigmentación en los órganos económicamente importantes anteriores, para los cuales la función de la antocianina parece obvia: atraer animales para la polinización y la dispersión de semillas. En segundo lugar, debido a que los descubrimientos de Richard Willstätter y sus colegas sobre la estructura molecular de las antocianinas de 1912 a 1916 se hicieron poco después del redescubrimiento de las leyes de herencia de Mendel, las antocianinas se convirtieron en un tema temprano de investigación en genética molecular, en lugar de fisiología. (Los guisantes de Mendel tenían flores de colores distintivos debido a las antocianinas). En tercer lugar, el descubrimiento de que la luz puede inducir la producción de antocianinas inspiró a los biólogos moleculares a estudiar cómo la exposición a la luz activa los genes

involucrados en la síntesis de antocianinas, nuevamente a expensas de la investigación sobre la función de las antocianinas.

Los botánicos de finales del siglo XIX, sobre todo los alemanes, que estudiaron la anatomía y fisiología de las plantas, notaron que la producción de antocianinas aumenta cuando una planta se somete a bajas temperaturas y altas condiciones de luz. Esta observación llevó a las explicaciones populares de que las antocianinas protegen la fotosintética. (Willstätter, 1916)

Actualmente, la apreciación de la antocianina en la comida y bebida de buena calidad es uno de los grandes placeres de la vida. El color juega un papel importante en nuestro disfrute de los alimentos, es apreciado tanto por su papel estético como base para la evaluación de la calidad. En este último sentido, el color da señales visuales para la identificación del sabor y los umbrales de sabor, influyendo en la preferencia alimentaria, la aceptabilidad de los alimentos y, en última instancia, la elección de los alimentos. Según (P. Bridle et. al., 1997) comenta que la mayoría de los alimentos, hoy en día, se procesan de alguna manera antes de llegar al consumidor, y los fabricantes tienen la necesidad de reemplazar el color perdido durante el procesamiento o colorear productos que, de otro modo, serían incoloros y poco atractivos. Con la creciente preocupación pública sobre la seguridad de los colorantes sintéticos, los extractos de pigmentos naturales están asumiendo una mayor prominencia. Europa tiene actualmente 13 pigmentos permitidos derivados de fuentes naturales, que pueden usarse para la coloración de alimentos. (Bridle and Timberlake, 1997)

Planteamiento del problema

Actualmente dentro de las industrias de alimentos se utilizan habitualmente colorantes los cuales son sustancias de origen natural o artificial que se utilizan para dar y/o aumentar el color de los alimentos, ya sea porque el alimento pierde su color durante su procesamiento industrial, o para hacerlo más agradable a la vista y más apetecible para los consumidores. Según (Castillo, 2016) menciona que los colorantes se dividen en dos tipos: pigmentos naturales y pigmentos adicionados. La FDA, por sus siglas en inglés (Food and Drug Administration) divide los pigmentos agregados en dos categorías: colorantes exentos certificados y colorantes certificados. El primero se encuentra en fuentes naturales animales, vegetales o minerales, mientras que el segundo se obtiene sintéticamente y se utiliza en pinturas o tintes.

Los autores (Ronald S. Kirk, Harold Egan, 1996) detallan mediante el artículo “Composición y análisis de alimentos” que los colorantes certificados tienen varias ventajas como es la estabilidad, la variedad de tonos, poder tintórico y pureza. Sin embargo, en los últimos años se ha discutido la seguridad de los colorantes sintéticos como el rojo N° 2, el rojo N° 4 y el rojo N°44 entre otros, demostrándose su toxicidad en muchas pruebas. Es así que las prohibiciones aplicadas al empleo de colorantes rojos certificados para alimentos a nivel mundial han provocado un aumento en el empleo de pigmentos rojos naturales como agentes colorantes. Por lo cual las fuentes naturales del color como son las betaínas, el ácido carmínico, ciertos carotenos y las antocianinas.

Por lo tanto, con el desarrollo de esta tesis se pretende extraer antocianinas en moras (*Morus nigra* + *Morus rubra*) para su aplicación como colorantes naturales para productos alimenticios, de modo que la pregunta de investigación que se plantea es:

¿La extracción de antocianinas a partir de moras (cultivadas y comercializadas en la ciudad de Esmeraldas) podría ser un proyecto rentable para la industria de alimentos local, como aditivo colorante?

Justificación

En la actualidad se ha incrementado el uso de colorantes debido a que se convirtió en una guía para la aceptación de muchos consumidores, esto viene sucediendo desde hace varios años, por eso numerosos estudios han demostrado que la aceptación de los productos por parte de los consumidores depende siempre su apariencia y color. Esta es la razón principal del uso de colorantes en los alimentos, estos productos tienen valores subjetivos que no se espera que causen riesgos para la salud. Por ello, los consumidores optan por utilizar colorantes naturales en lugar de colorantes sintéticos, por lo que esta investigación se centra en la obtención de colorantes naturales que satisfagan las necesidades actuales del mercado.

El método de obtención es fácil de aplicar, similar al método de extracción de pigmentos naturales, pero la investigación se basa en extraer pigmentos de mora para su aplicación en productos alimenticios y observar el efecto de los colorantes en la tonalidad del producto terminado. La realización de este trabajo ha propiciado el aprovechamiento de recursos como la mora en nuestro país, que en muchos casos se descartan por daños menores luego de la cosecha, dando así un impacto significativo en el sector agrícola.

Al obtener colorantes naturales, el sector de cultivos de mora tendrá grandes beneficios, debido a que el desarrollo de esta investigación se valoró a la *morus nigra* como una nueva alternativa de materia prima para la extracción de colorantes naturales en productos alimenticios.

Objetivos

Objetivo General

Desarrollar un proceso de extracción, eco sustentable, de antocianinas para generar extractos acuosos e hidroalcohólicos de Mora (*Morus nigra* + *Morus rubra*), en condiciones de laboratorio, para su aplicación como colorante natural en productos alimenticios.

Objetivos Específicos

1. Obtener antocianinas a partir de la mora (*Morus nigra* + *Morus rubra*).
2. Evaluar la aplicabilidad de técnicas de extracción (sólido-líquido) y análisis a escala de laboratorio, cromatografía en papel, comercializada en la Ciudad de Esmeraldas, que permita básicamente, la determinación de antocianinas totales en la pulpa de la Mora (*Morus nigra* + *Morus rubra*), mínimamente procesada.
3. Aplicar los extractos de antocianinas aislados a partir de Mora (*Morus nigra* + *Morus rubra*), como colorante natural para alimentos, principalmente en el yogurt natural.

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes

Para el desarrollo de esta investigación se utilizaron fuentes bibliográficas y repositorios que existen como Scielo, Google académico y Science Direct, y literaturas relacionadas con antocianinas las cuales se detallan a continuación:

(Gong et al., 2021) detallaron en su artículo que la pulverización de solución de etanol que contiene ácido fenólico (ácido ferúlico o ácido cafeico) antes de someterla al secado al aire asistido por ultrasonido de la mora. Los resultados del modelado de transferencia de masa revelaron que la sonicación intensificó tanto la difusión interna de agua como el intercambio externo de agua durante el secado, y el pretratamiento con etanol mejoró la difusividad efectiva del agua. En comparación con el secado al aire solo, el tiempo de secado para el pretratamiento secuencial con ácido ferúlico y el secado con sonicación se acortó en un 89.2 %. Debido a la copigmentación entre el ácido fenólico y las antocianinas, la retención de antocianinas mejoró significativamente después de la deshidratación. Al final del secado, el contenido total de antocianinas en las muestras secas por ultrasonido pretratadas con ácido ferúlico y ácido cafeico fue un 25,3 % y un 10,5 % más alto que las muestras sonicadas sin pretratamientos, respectivamente.

(Osvaldt Rosales et al., 2021) comentan que las antocianinas son pigmentos naturales con importantes propiedades biológicas en los seres humanos. Sin embargo, existen limitaciones para el uso tecnológico de las antocianinas debido a la inestabilidad química. Impide el uso como aditivos alimentarios y también disminuye la biodisponibilidad humana debido a la modificación del microbiota intestinal, lo que demuestra que es necesario proteger las antocianinas a través de estrategias de encapsulación. El objetivo de este trabajo fue desarrollar nanopartículas basadas en el autoensamblaje de pectina y lisozima para la encapsulación de extractos enriquecidos con antocianinas de moras (*Rubus spp.*). La antocianina primaria identificada en el extracto fue cianidina-3-O-glucósido (90%) y los parámetros de formulación de las nanopartículas se optimizaron mediante la metodología de superficie de respuesta. Los principales resultados mostraron

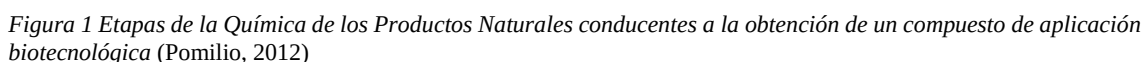
un nanocompuesto con 198,5 nm, índice de polidispersidad 0.18 y potencial zeta -16.7 mV, con una eficiencia de encapsulación del 73 % y una capacidad de carga del 15 %.

En la investigación de (Rojas-aguilar and Correa-higuera, 2016) se refieren al colorante natural alimentario extraído con metanol de las antocianinas presentes en la mora (*Rubus glaucus beth*); el extracto obtenido ha superado el método de análisis por cromatografía en capa fina y el análisis de estabilidad y prueba de toxicidad para diferentes condiciones ambientales para su caracterización. Asimismo, se estudió el método de obtención del producto final más adecuado. Finalmente, se aplicó el colorante a derivados lácteos comerciales para verificar su efectividad, en comparación a los colorantes sintéticos y se determinó su rentabilidad. Los resultados demuestran que el colorante alimentario es eficaz, relativamente estable, manteniendo la naturalidad del producto y garantizando su seguridad.

(Gide, 1967) menciona que el interés de la industria alimentaria en los colorantes naturales que reemplazan a los colorantes sintéticos ha aumentado significativamente en los últimos años, principalmente debido a problemas de seguridad. La importancia del color para la aceptabilidad de los productos alimenticios y la necesidad de satisfacer y atraer a más consumidores a un mercado competitivo en crecimiento ha dado lugar al desarrollo de nuevos pigmentos y productos. Se discuten brevemente varios aspectos, como las fuentes naturales de antocianinas, los métodos de extracción y análisis, la estabilidad de las antocianinas y las variaciones de color, y las aplicaciones en productos alimenticios.

Química de productos naturales aislados a partir de extractos botánicos acuosos y alcohólicos.

De acuerdo con lo indicado anteriormente sobre química de productos naturales de origen vegetal, se requieren conocimientos teórico-técnicos previos de Taxonomía, Botánica, Biología General y Ecología como se observa en Figura 1 para comprender las interacciones entre organismos y las señales químicas como respuesta al estrés. No obstante, el material vegetal en estudio es identificado por taxónomos especialistas, siendo necesario guardar ejemplares de herbario en instituciones reconocidas internacionalmente. En las publicaciones se detalla el nombre del taxónomo y el número de depósito del material de herbario y en qué institución se ha depositado. (Pomilio, 2012)



Mora

Es una baya globosa de color azul oscuro o negro cuando está madura, de 5-7 mm de diámetro, con cinco a ocho frutos en los esquejes, el peso individual está cerca de los 0.2 gr, cada fruto tiene numerosas semillas diminutas (alrededor de 65 semillas). Una planta bien desarrollada puede llegar a tener hasta 3.600 frutos. El fruto llega a la madurez comercial cuando se pone de color escarlata con suficiente dureza y contextura. El fruto es altamente perecedero, característica que debe tenerse en cuenta para la cosecha, la poscosecha y la comercialización. Además, la mora Figura 2 es el alimento tradicional del gusano de seda, ha sido seleccionada y mejorada por calidad y rendimiento de hojas en diversos ambientes y actualmente se encuentra presente en varios países alrededor del mundo. Los frutos de *Morus nigra* y *Morus rubra* son los de mejor sabor, mientras que los de *Morus alba* suelen resultar desabridos. (Restrepo and Sánchez, 2011)



Figura 2 *Morus rubra* y *Morus nigra*

Morus: morales o moreras

- *Morus alba* (mora de la morera o mora blanca)
- *Morus nigra* (mora del moral o mora negra)
- *Morus rubra* (mora «roja»)

Rubus: zarzas

- *Rubus caesius* (zarza pajarera)
- *Rubus chamaemorus* (mora de los pantanos)
- *Rubus fruticosus* (zarzamora)
- *Rubus glaucus* (mora andina o mora de Castilla)
- *Rubus spectabilis* (mora naranja)

- *Rubus ulmifolius* (zarzamora o mora)

Mora de la India (fruto de la especie *Morinda citrifolia*)

Mora maclura (fruto de la especie *Maclura tricuspidata*)

Origen y condiciones ecológicas

Desde tiempos remotos, los árboles de morera han crecido de forma individual y silvestre en diferentes partes del mundo. con el inicio de la sericultura, estas plantas fueron llevadas a diversos países para iniciar la producción del gusano de seda, por lo que existen evidencias de que la domesticación de la morera comenzó hace unos 5000 años.

Son especies cosmopolitas y se ha hecho extremadamente difícil situar con seguridad su origen; sin embargo, varios autores señalan al Himalaya como el lugar más probable de origen.(Benavides et al., 1996)

El género *Morus* se ha distribuido en casi todo el mundo, tanto en áreas templadas como tropicales, donde solo la especie *M. rubra* es oriunda de América y el continente australiano es el único que no cuenta con ninguna de las especies de morera en la actualidad.(Sánchez, 2002)

Es originaria de las zonas altas tropicales de América, principalmente de Colombia, Ecuador, Panamá, Guatemala, Honduras, México y Salvador, como se ejemplifica en la Figura 3. El género *Morus* es uno de los de mayores números de especies en el reino vegetal. Se encuentra diseminada en casi todo el mundo excepto en las zonas desérticas.



Figura 3 Ruta del origen de la mora en América.

Los principales países exportadores de la mora a nivel mundial por millón en el año 2020 fueron:

Tabla 1 Países exportadores de mora fresca 2020

PAÍSES EXPORTADORES	DATOS	%
ESPAÑA	515.95 M	22.66
ALEMANIA	43.81 M	1.92
ESTADOS UNIDOS	347.42 M	15.26
BELGICA	29.1 M	1.28
FRANCIA	27.35 M	1.20
HOLANDA	204.53 M	8.98
MEXICO	497.94 M	21.87
MARRUECOS	337.61 M	14.83
POLONIA	27.37 M	1.20
PORTUGAL	245.76 M	10.79

Elaborado por: (Demera Mónica 2022)

Fuente: <https://www.tridge.com/intelligences/blackberry>

Los principales países importadores por millón del año 2020 fueron:

Tabla 2 Países importadores de mora fresca 2020

PAÍSES IMPORTADORES	DATOS	%
ESTADOS UNIDOS	1.527,69 M	48.64
CANADÁ	321,95 M	10.25
ALEMANIA	318,19 M	10.13
REINO UNIDO	282,6 M	9.00
ESPAÑA	223,26 M	7.11
PAÍSES BAJOS	189,53 M	6.03
FRANCIA	139,1 M	4.43
AUSTRIA	49,46 M	1.57
SUIZA	44,7 M	1.42
ITALIA	44,57 M	1.42

Elaborado por: (Demera Mónica 2022)

Fuente: <https://www.tridge.com/intelligences/blackberry>

Taxonomía

Con el fin de realizar la extracción de antocianinas de mora, se realizó las siguientes tablas con su clasificación taxonómica (*Morus nigra* Tabla 4 + *Morus rubra* Tabla 3).

Tabla 3 Clasificación taxonómica de la *Morus rubra*

Reino:	Plantae
Subreino:	Tracheobionta
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Rosales
Familia:	Moraceae
Género:	<i>Morus</i>
Especie:	<i>Morus rubra</i>

Fuente: (iNaturalist, 2019)



Tabla 4 Clasificación taxonómica de la *Morus nigra*.

Reino:	Plantae
Subreino:	Tracheobionta
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Rosales
Familia:	Moraceae
Género:	<i>Morus</i>
Especie:	<i>Morus nigra</i>

Fuente: (Jiménez, 2012)



Descripción botánica

Son plantas leñosas perennes, de porte bajo a medio, semi-caducifolias en las condiciones del trópico, de rápido crecimiento, monoica o dioica, y con un sistema radical profundo. La mayoría de las especies presentan copa aproximadamente redondeada y ramificada, con tronco de corteza grisácea que llega a medir 60 cm de diámetro. Las hojas generalmente son alternas, pecioladas, simples, íntegras, brillantes y estipuladas de 1 a 5 lóbulos, con el haz lampiño, y el envés ligeramente tomentoso en las axilas de los nervios principales; se pueden observar de anchamente ovadas a orbicular-ovadas, con ápice agudo o cortamente acuminado; base oblicua y semi-truncada o subcordada.

En la mayoría de las especies y variedades el borde es dentado o irregularmente lobulado, de consistencia blanda. El pecíolo es grande, de 12 x 8 cm en las ramas con frutos, y 25

x 20 cm en las ramas sin frutos. La inflorescencia es simple, axilar, en amentos de color crema o verdosos; con pedúnculos pendientes o colgantes, en la que se encuentra las flores unisexuales en espigas densas de hasta 2 cm de largo, con 4 sépalos. Las espigas masculinas se caen rápidamente, las flores están arregladas descuidadamente, y después de dejar caer el polen la inflorescencia se seca. Las espigas femeninas son usualmente cortas y las flores están en forma compacta; éstas presentan 4 lóbulos y 4 estambres en yema; el estigma es bifido; el ovario unicelular madura en un fruto agregado (sincarpo) de drupeolas, de forma obloide a oblongo-cilíndrico de 1 a 5 cm de largo; este puede ser blanco, rosado o púrpura, en dependencia de la especie.(Cifuentes, 1998)

Mora en la República de Ecuador y mercado en Esmeraldas.

En Ecuador en el año 2016, la producción de mora se encuentra distribuida a lo largo de todo el callejón interandino, especialmente en las provincias de Tungurahua, Cotopaxi, Bolívar, Chimborazo, Pichincha, Imbabura y Carchi. La provincia con mayor producción es Bolívar, aportando 34 209 t/año, lo que equivale al 39 % de la producción nacional de la fruta. Esta provincia registra un rendimiento de 6.90 t/ha.

La segunda provincia productora de mora es Tungurahua, aportando el 33 % de la producción nacional. Además, esta provincia tiene un rendimiento de 8 t/ha. que es el más alto de todas las provincias productoras. Por otro lado, los valores de producción reportados para este cultivo muestran que la oferta a nivel nacional de mora no alcanzaría a cubrir la demanda de mora del país. Este déficit se supliría con la mora producida en la frontera sur de Colombia que es comercializada en Ecuador a través de los intermediarios y productores de la zona de Maldonado en la provincia del Carchi.(Mosquera et al., 2016)

Según (Diario la Hora, 2021) En el Mercado Central de la ciudad de Esmeraldas el comercio no se detiene y la afluencia de visitantes de todos los sectores aledaños se vuelve evidente a partir de las 05:00, lapso en el que se abren las puertas.

En cuanto a la fruta, si bien la mayoría se ha mantenido con el mismo precio, la mora habría tenido una baja en su valor, pues antes la libra estaba a \$1,25, pero hoy a solo un dólar. (Hora, 2021)

Antocianinas

Las antocianinas comprenden el grupo más extenso de pigmentos solubles en agua en el reino vegetal y son especialmente características de las angiospermas o plantas con flores, que por sí mismas proporcionan nuestra principal fuente de cultivos alimenticios. En las plantas alimenticias, las antocianinas están muy extendidas y ocurren en al menos 27 familias, 73 géneros y una multitud de especies. (Bridle and Timberlake, 1997)

(Castañeda et. al., 2009) describen que las antocianinas son flavonoides con estructura catiónica de flavilio y aparecen en diferentes colores según su estructura química particular y el pH de las soluciones en las que están presentes. (Castañeda-Ovando et al., 2009) Las antocianinas desempeñan un papel importante en el color de las uvas y el vino y, en particular, pueden contribuir a las propiedades organolépticas, como el color y el sabor. (González-Manzano et al., 2009) Después de su coloración rojiza, la acumulación de antocianinas es el principal material que cambia de color durante el desarrollo de la uva.

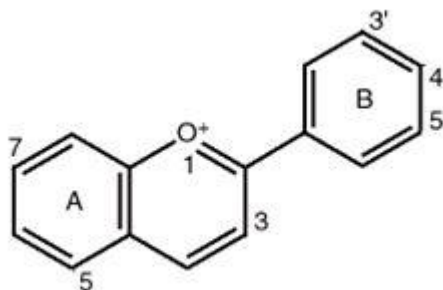


Figura 4 Ión flavilio de las antocianinas

Detección e importancia de las antocianinas

La detección se realiza mediante propiedades espectrales que son a menudo usadas para la caracterización de antocianinas, especialmente para identificar el tipo de antocianina. El análisis espectrométrico UV es la técnica usada comúnmente para identificar y cuantificar antocianinas, además el espectro de absorción de las antocianinas depende del pH.

Por otro lado, la importancia en los pigmentos antociánicos se ha intensificado recientemente debido a sus propiedades farmacológicas y terapéuticas.(Garzon Gloria Astrid, 2008) Durante el paso del tracto digestivo al torrente sanguíneo de los mamíferos, las antocianinas permanecen intactas (Miyazawa et al., 1999) y ejercen efectos terapéuticos conocidos que incluyen la reducción de la enfermedad coronaria, efectos anticancerígenos, antitumorales, antiinflamatorios y antidiabéticos; además del mejoramiento de la agudeza visual y del comportamiento cognitivo.(Miyazawa et al., 1999)

Estructura de antocianinas

Existe una gran diversidad de antocianinas en la naturaleza, con variadas estructuras base; se han reportado unas 635 antocianinas diferentes. Las antocianinas pertenecen a la familia de los flavonoides y están formadas por una molécula de antocianidina, que es la aglicona, a la que se le une un azúcar mediante de un enlace glucosídico. La estructura química básica de estas agliconas es el ion flavilio, llamado también 2-fenil-benzopirilio, el cual consta de dos grupos aromáticos: un benzopirilio y un anillo fenólico; unidos por una cadena de tres átomos de carbono.(Guerrero-Beltrán, 2017) Las variaciones estructurales del anillo B dan lugar a seis antocianinas más frecuentes, encontradas en plantas superiores:

- **Pelargonidina:** Posee dos sustituyentes hidrogeno y es responsable del color rojo.
- **Cianidina:** Posee un sustituyente hidroxilo y un hidrogeno, es la más común e imparte color magenta.
- **Delfinidina:** Posee dos sustituyentes hidroxilo y es responsable del color azul.
- **Peonidina:** Su estructura es derivada de la cianidina.
- **Petunidina:** Su estructura basada en la delfinidina.
- **Malvinidina:** Al igual que la Petunidina, está basada en la delfinidina

Las antocianinas son glucósidos de antocianidinas, pertenecientes a la familia de los flavonoides, compuestos por dos anillos aromáticos A (benzopirilio) y B (anillo fenólico) unidos por una cadena de 3 C. Variaciones estructurales del anillo B resultan en seis antocianidinas conocidas para ejemplificar véase en la Figura 5 y Tabla 5.(Garzón, 2010)

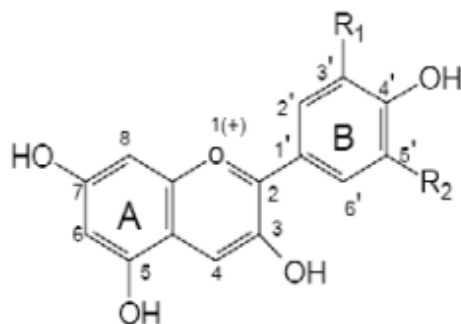


Figura 5 Estructura de las antocianinas.

El color de cada antocianina depende del número y orientación de los grupos metoxilos e hidroxilos. Se ha observado que el aumento en la metoxilación produce el color rojo y el aumento en la hidroxilación produce el color azul.

Se han identificado 6 antocianinas principales en las plantas superiores, pelargonidina (Pg), cianidina (Cy), peonidina (Pn), delfinidina (Df), petunidina (Pt) y malvidina (Mv), pero debido a la ausencia de la enzima dihidroflavonol 4- reductasa en *Vitis vinífera* L. solo se presentan 5 antocianinas principales, la proporción que comúnmente se encuentran es: 7 % de Pt, 7 % de Mv, 12 % de Pn, 12 % de Df y 50 % de Cy, siendo esta última la precursora de las otras antocianinas

Tabla 5 Estructura de las antocianinas.

Antocianidinas (Aglicona)	Substitución		λ max. (nm) espectro visible
	R1	R2	
Pelargonidina	H	H	494 (naranja)
Cianidina	OH	H	506 (naranja-rojo)
Delfinidina	OH	OH	508 (azul-rojo)
Peonidina	OCH ₃	H	506 (naranja-rojo)
Petunidina	OCH ₃	OH	508 (azul-rojo)
Malvidina	OCH ₃	OCH ₃	510 (azul-rojo)

Factores químicos que determinan el color y la estabilidad de las antocianinas

A pesar de las ventajas que las antocianinas ofrecen como posibles sustitutos de los colorantes artificiales, su incorporación a matrices alimenticias o productos farmacéuticos y cosméticos son limitadas debido a su baja estabilidad durante el procesamiento y el almacenamiento.(Garzón, 2010)

Efecto del pH. El núcleo de flavilio es deficiente en electrones y por lo tanto muy reactivo, lo que lo hace muy sensible a cambios de pH. Por otra parte, al madurar las frutas, el pH cambia, y con ello el color. Estos cambios de las antocianinas se deben a modificaciones en su estructura, que en muchos casos son reversibles.(Badui, 2006)

Las diferentes coloraciones de las antocianinas también se deben a la conversión del catión flavilio a formas secundarias de las antocianinas en medios acuosos, así como a interacciones moleculares. Debido a una deficiencia del núcleo de flavilio, estos pigmentos funcionan como verdaderos indicadores de pH. A pH ácidos adquieren una estructura oxonio estable de catión flavilio colorido. Al aumentar el pH se promueve la desprotonación del catión flavilio; 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.(Badui, 2006)

Efecto de ácidos. El ácido ascórbico decolora a las antocianinas en presencia de iones cobre o hierro por formación de peróxido de hidrógeno, produciéndose la degradación de ambos compuestos cuando se almacenan por tiempos prolongados. El mecanismo incluye la formación de peróxidos, producto de degradación del ácido ascórbico, los cuales reaccionan con el azúcar en posición 3 incluso a un pH 2, cuando el pigmento es más estable.(Badui, 2006)

Efecto del oxígeno. La naturaleza insaturada de la estructura de las antocianinas las convierte en susceptibles al oxígeno molecular. El oxígeno amplifica el impacto de otros procesos de degradación, por ejemplo, la remoción de oxígeno protege contra la degradación térmica. Según (Rein, 2018) señala que la presencia de oxígeno junto con

temperaturas elevadas fue una de las combinaciones con efecto más severo en el color dentro de los factores estudiados en jugos de berries y antocianinas puras aisladas.

Efecto de temperatura. La estabilidad de las antocianinas en los alimentos se ve notablemente afectada por la temperatura. La velocidad de degradación de la antocianina se incrementa durante el procesamiento y almacenamiento en tanto la temperatura aumenta. La velocidad de degradación frente a este factor también está influenciada por la presencia de oxígeno, el pH y la conformación estructural. En general las características estructurales que conducen a un aumento de la estabilidad frente a cambios de pH también llevan a la estabilidad térmica.(Sceni, Mabel Rembado, 2009)

Efecto de la luz. La luz afecta las antocianinas de dos formas diferentes: es esencial para su biosíntesis, pero también acelera su degradación. Las antocianinas preservan el color mantenidas en la oscuridad. (Sceni, Mabel Rembado, 2009) menciona que se ha observado que los diglicósidos acilados, metilados, son más estables que los diglicósidos no acilados, los cuales a su vez son más estables que los monoglicósidos.

Efecto de metales. La estabilidad de las antocianinas se da únicamente en medios fuertemente ácidos. Debido a la inestabilidad de sus bases anhidro estos compuestos favorecen la decoloración en el rango de pH 4 a 6. Desde que el pH de algunas frutas cae dentro de este rango es posible que las antocianinas en su estado original existan efectivamente en su forma estable. Algunos investigadores indican la posible implicancia de complejos antocianina - metal en la estabilidad del color. Aunque anhidro bases puras son bastante inestables, ellos forman sustancias complejas con metales tales como aluminio y fierro los cuales son bastante estables a altos pH.(Shrikhande, 1976)

Estabilidad

La estabilidad de las antocianinas depende del tipo de pigmento de antocianina, copigmentos, luz, temperatura, pH, iones metálicos, enzimas, oxígeno y antioxidantes. Además, su estabilidad ocurre bajo condiciones ácidas.(Khoo et al., 2017)

(Willstätter, 1916) fue el primero en describir el cambio de color de las antocianinas, moléculas en las que se produce el efecto batocrómico, que consiste en que, al cambiar la acidez, es decir el pH, se pasa del rojo anaranjado en condiciones ácidas, como el de la

pelargonidina, al rojo intenso violeta de la cianidina en condiciones neutras, y al rojo púrpura-azul de la delfinidina, en condiciones alcalinas.

Por otro lado la estabilidad de las antocianinas en la elaboración de jugos resulta afectada por muchos factores tales como el tipo de antocianinas, de las materias primas y especialmente de la temperatura de almacenamiento.(Hellström et al., 2013)

El color de las antocianinas depende del pH de la solución. Esto se debe a que la estructura molecular de las antocianinas tiene una naturaleza iónica.(Khoo et al., 2017)

Aplicaciones de las antocianinas

Las aplicaciones comerciales de las antocianinas como colorantes alimentarios incluyen refrescos, conservas de frutas (mermeladas, frutas enlatadas), dulces de azúcar (jaleas), productos lácteos (esencialmente yogures), mezclas secas (mezclas ácidas de postres y bebidas en polvo) y más raramente productos congelados (helados) y pocas bebidas alcohólicas. Entre estas aplicaciones, los refrescos han sido el objetivo principal e ideal para el uso de antocianinas como colorante. Teniendo en cuenta todos los factores anteriormente referidos que gobiernan y limitan la aplicación de antocianinas en las matrices alimentarias, un pH ácido (por debajo de 3.5) parece ser necesario para obtener el color rojo deseado. La aplicación de antocianinas en bebidas turbias (u otros alimentos) no es adecuada ya que pueden producirse efectos secundarios no deseados (efecto "azulado" y efecto "capa delgada"). Los extractos de uva son ricos en antocianinas comparadas con otros compuestos y, por lo tanto, son más estables hacia las variaciones de pH y en presencia de SO₂ que las antocianinas monoméricas genuinas, como ya se discutió. Esta es una de las razones por las que los extractos de uva son ampliamente utilizados como fuentes de antocianinas de colorantes naturales. Además, las antocianinas se pueden obtener fácilmente en grandes cantidades a partir de las uvas, ya que estas últimas representan aproximadamente una cuarta parte de la cosecha anual de frutas en todo el mundo.(Winefield, 1967)

Las antocianinas naturales tienen poderosas propiedades colorantes, ya que solo se requieren pequeñas dosis de antocianinas para mostrar el color deseado en varias matrices alimentarias (por ejemplo, 30-40 ppm para refrescos y 20-60 ppm para conservas de

frutas). En general, los colorantes naturales tienen mayores capacidades de coloración que los sintéticos, como se ve en sus absorciones relativas. Las antocianinas se requieren casi exclusivamente para ofrecer un color rojo a los alimentos, pero en algunos casos se prefieren las betaínas (otro grupo de compuestos naturales).(Winefield, 1967)

Copigmentación

(Zapata, 2014) detalla que la copigmentación es uno de los principales factores de estabilización de las antocianinas. Además, las 11 formas coloreadas de las antocianinas pueden estabilizarse por interacción con componentes, llamados copigmentos. Los cuales pueden ser flavonoides, polifenoles, alcaloides, aminoácidos, ácidos orgánicos y grupos acilo aromáticos, entre otros. El fenómeno de copigmentación se observa como un cambio batocrómico o como un efecto hipercrómico. El cambio batocrómico también se denomina “efecto de azulado”, ya que el color de la antocianina cambia de rojo a tonalidades azules, mientras que el efecto hipercrómico la intensidad del color roja se acentúa.

Por otra parte, en el 2020, (Molaeafard et al., 2021) consideraron que el factor más efectivo en las reacciones de copigmentación es la intensidad del copigmento agregado a la antocianina, que también depende de la relación molar del copigmento a la antocianina.

Extracción de antocianinas

Es comúnmente llevada a cabo con metanol o etanol conteniendo una pequeña cantidad de ácido (15%, HCl 1M) con el objetivo de obtener la forma del catión flavilio, el cual es estable en un medio altamente ácido. No hay diferencia significativa en lecturas de absorbancia o eficiencia de extracción entre el etanol y metanol (Abdel-Aal y Hucl, 1999). Es preferible usar etanol ya que es menos tóxico, particularmente en usos alimenticios y ensayos clínicos. Adicionalmente, si los extractos contienen materiales lipídicos, la adición de un solvente orgánico tal como hexano al extracto puede eliminar algunas sustancias que contenga dichos materiales. El ácido puede causar hidrólisis parcial de las fracciones acilo en antocianinas aciladas, especialmente en aquellas con ácidos dicarboxílicos tales como ácido malónico, por lo que el uso de ácidos débiles es

deseable, tal como ácido tartárico o cítrico para mantener los sustituyentes dicarboxílicos intactos.

El pH también ha mostrado que tiene una influencia significativa sobre el color de los extractos de antocianinas, las lecturas de absorbancia y la recuperación del extracto. A valores de pH más bajos ($\text{pH} < 2$), los extractos de trigo azul y morados exhibieron un cambio de color rojo a rojo oscuro. (Castañeda-Ovando et al., 2009; González-Manzano et al., 2009)

Sólido – líquido:

Este tipo de extracción separa sustancias que están contenidas en un material sólido, junto con otros componentes, los cuales deberán ser prácticamente insolubles en el disolvente utilizado. Es muy usada para aislar sustancias naturales de origen vegetal, o bien, de mezclas resinosas obtenidas por síntesis. Para esto, se suele emplear un aparato Soxhlet, que es un aparato de extracción continua.(Inostroza et al., 2015)

A continuación, en la Tabla 6 se detalla varios solventes y su punto de ebullición

Tabla 6 Punto de ebullición de solventes(Nuñez, 2012)

SOLVENTES ORGÁNICOS	TEMPERATURA (°C)
ÉTER	36
DICLOROMETANO	40
CLOROFORMO	62
ETANOL – BENCENO	65
ETANOL- TOLUENO	73
ETANOL	78
CICLOHEXANO	81
ÉTER DE PETRÓLEO	35 – 50
METANOL	65
HEXANO	69
ACETATO DE ETILO	77
BENCENO	80
ÁCIDO FÓRMICO	101
TOLUENO	111

Método Soxhlet

La extracción Soxhlet implica el contacto sólido: líquido para la remoción de uno o varios compuestos de un sólido por disolución en una fase líquida de reflujo. Para dicho montaje, la parte sólida se colocó en una cavidad que, mediante el paso del tiempo, se llenó gradualmente con la fase líquida de extracción por la condensación de los vapores en un matraz de destilación.

Cuando el líquido alcance un nivel preestablecido, un sifón vuelve a introducir el contenido que se encontraba en la cavidad dentro del matraz de destilación, llevando dentro los compuestos extraídos de la materia sólida que se empleó. Este proceso se repitió hasta obtener una completa extracción. En la Figura 6 se muestra el montaje de este método con cada una de sus partes.(Ruiz, 2019)

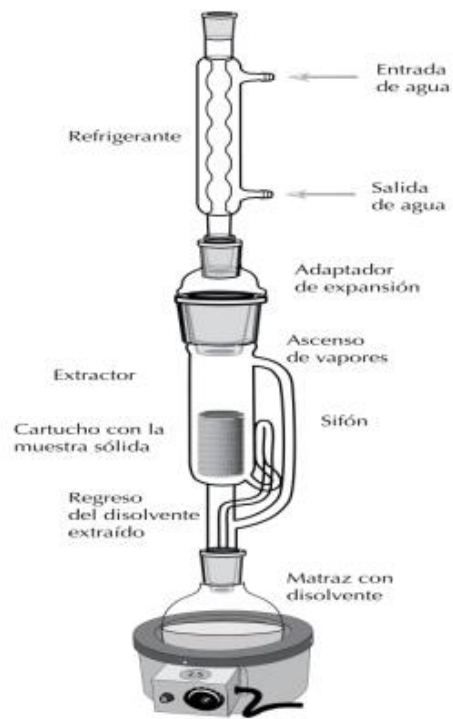


Figura 6 Montaje Soxhelt a nivel laboratorio

Tomado: (Ruiz, 2019)

Solubilidad de los pigmentos de antocianina

Las antocianinas se producen como iones de flavilio en las uvas y los vinos. El pigmento de antocianina parece ser rojo en condiciones ácidas y azul a violeta en soluciones alcalinas. Estos pigmentos de color se extraen comúnmente de flores, bayas, grosella negra y frutas y verduras de color púrpura. Además, el agua es el medio de extracción típico para el aislamiento de pigmentos de antocianina. Además, algunas fábricas de procesamiento de alimentos utilizan soluciones alcohólicas para extraer pigmentos de antocianina. Esto se debe a que las antocianinas son solubles tanto en agua como en la mayoría de los disolventes orgánicos. Por el contrario, la antocianina no es soluble en el disolvente orgánico apolar, tampoco es estable en soluciones alcalinas o neutras. (Khoo et al., 2017)

Métodos y técnicas para la extracción de antocianinas

Las antocianinas se pueden extraer de diferentes tejidos vegetales. El método usual de extracción es la extracción sólido-líquido. Sin embargo, es de destacar la existencia de otros métodos. Así, científicos japoneses desarrollaron una metodología alternativa que consiste en extraer las antocianinas mediante la fermentación de las matrices que las contienen. En cuanto a la extracción de antocianinas por fermentación de una matriz, es una técnica relativamente novedosa que no ha sido todavía muy estudiada. (Fan et al., 2008) estudiaron la obtención de antocianinas a partir de la fermentación de batata morada mezclada con arroz. Estos autores señalaron que las antocianinas extraídas de esta forma fueron más puras que las obtenidas por métodos extracción sólido-líquido, sin embargo, no aportaron datos de los componentes de las antocianinas extraídos y de su estabilidad.

Cromatografía en papel

La cromatografía en papel es una técnica simple que tiene buena capacidad de resolución y se aplica en la separación e identificación de compuestos muy polares o polifuncionales como ácidos orgánicos, antibióticos hidrosolubles, hidratos de carbono, aminoácidos y pigmentos vegetales, entre otros. (Corzo, 2019)

La cromatografía en papel pertenece a la categoría "Cromatografía de líquidos". La fase estacionaria se compone de una cinta de papel introducida verticalmente en un recipiente de cristal y la fase móvil de un líquido. El movimiento de la fase móvil se produce debido a la fuerza capilar. Un campo de uso de la cromatografía en papel es el análisis de mezclas.(PCE, 2016)

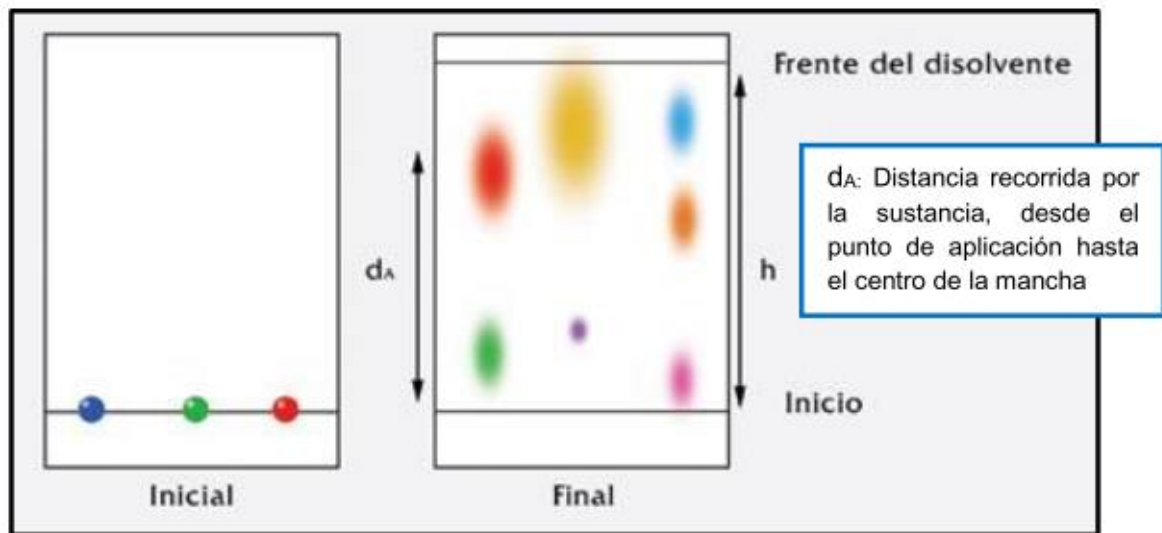


Figura 7 Cromatografía en papel

Tomado por: (Corzo, 2019)

La distancia recorrida por una sustancia, en un tiempo determinado, se mide desde el punto de aplicación de la misma hasta el centro de la mancha producida por ella, luego de su revelado; la distancia recorrida por el frente del solvente se mide desde la línea de siembra (línea de partida), hasta la mayor distancia hasta la cual se observe húmedo el papel.

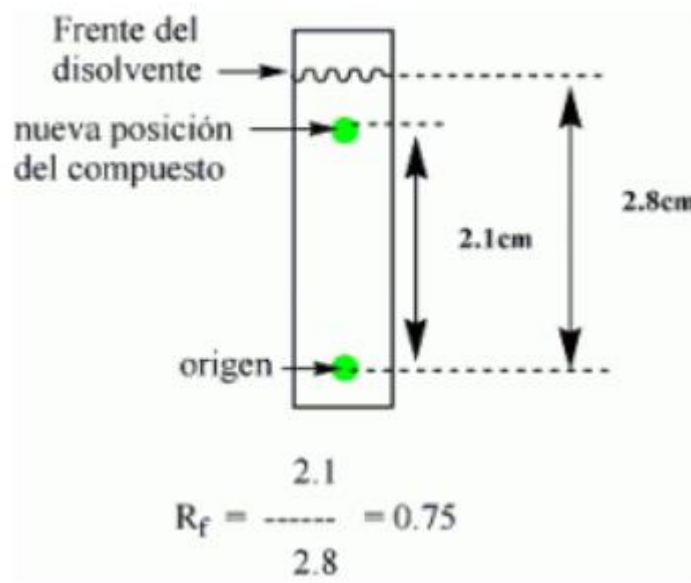


Figura 8 Cálculo de R_f

Tomado por: (Corzo, 2019)

ISO 22000: SISTEMA DE GESTIÓN DE SEGURIDAD ALIMENTARIA (SGSA)

Esta normativa en la sección 4.4 SGSA, menciona la necesidad de enfocarse en la interacción de los procesos. Todos los procesos y sus interacciones incluidas en el alcance del SGSA deben determinarse y controlarse para obtener los resultados previstos, de acuerdo con la dirección estratégica y la política de seguridad alimentaria. (Autoridad Nacional de Calidad, 2018)

Mejora continua mediante auditorías internas

La norma establece que "las organizaciones deben mejorar continuamente la idoneidad, adecuación y eficacia del SGSA"

La ISO 22000:2018 determina que las auditorías internas deben llevarse a cabo a intervalos planificados. En la mejora continua el auditor decidirá cuáles deberían ser esos intervalos. La normativa recomienda que se deben realizar las auditorías de todos los procesos al menos una vez al año, auditando los procesos de mayor riesgo con mayor frecuencia. El propósito de las auditorías internas es doble: verificar que el sistema de gestión cumpla con los requisitos especificados por las organizaciones según sea

necesario para sus operaciones y garantizar la conformidad con los requisitos de la ISO 22000:2018.(Autoridad Nacional de Calidad, 2018)

1.3. **Marco Legal**

En la Constitución de la República del Ecuador en su Capítulo Segundo de la sección primera Agua y alimentación Art. 13.- Las personas y colectividades tienen derecho al acceso seguro y permanente a alimentos sanos, suficientes y nutritivos; preferentemente producidos a nivel local y en correspondencia con sus diversas identidades y tradiciones culturales.(“CONSTITUCIÓN DEL ECUADOR,” 2012)

Constitución de la República del Ecuador en su Capítulo Tercero Soberanía alimentaria Art. 281.- La soberanía alimentaria constituye un objetivo estratégico y una obligación del Estado para garantizar que las personas, comunidades, pueblos y nacionalidades alcancen la autosuficiencia de alimentos sanos y culturalmente apropiado de forma permanente. Además, en su numeral 14 se menciona que adquirir alimentos y materias primas para programas sociales y alimenticios, prioritariamente a redes asociativas de pequeños productores y productoras.(“CONSTITUCIÓN DEL ECUADOR,” 2012)

En la Ley Orgánica de la Salud Capítulo II De la alimentación y nutrición en el Art 16.- El Estado establecerá una política intersectorial de seguridad alimentaria y nutricional, que propenda a eliminar los malos hábitos alimenticios, respete y fomente los conocimientos y prácticas alimentarias tradicionales, así como el uso y consumo de productos y alimentos propios de cada región y garantizará a las personas, el acceso permanente a alimentos sanos, variados, nutritivos, inocuos y suficientes.(Ley Orgánica de Salud, 2015)

La Ley Orgánica de la Salud Capítulo II De los alimentos en el Art 145.- Es responsabilidad de los productores, expendedores y demás agentes que intervienen durante el ciclo producción consumo, cumplir con las normas establecidas en esta Ley y demás disposiciones vigentes para asegurar la calidad e inocuidad de los alimentos para consumo humano.(Ley Orgánica de Salud, 2015)

En el Plan Nacional para el Buen Vivir 2017-2021 menciona que se brindará espacio a investigadores y emprendedores con el fin de patrocinar esta iniciativa, la cual pretende

el aprovechamiento responsable de la biodiversidad, permita generar nuevos empleos y amplíe la oferta para promover una alimentación sana, una construcción inmobiliaria sustentable, una industria cosmética y de bebidas con productos alternativos, entre otras.(Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo, 2017)

La Ley Orgánica del Régimen de Soberanía Alimentaria Capítulo I Fomento a la producción, detalla en su Artículo 13. Fomento a la micro, pequeña y mediana producción.- Para fomentar a los microempresarios, microempresa o micro, pequeña y mediana producción agroalimentaria, de acuerdo con los derechos de la naturaleza, el Estado: i) Facilitará la producción y distribución de insumos orgánicos y agroquímicos de menor impacto ambiental.(Asamblea Nacional Constituyente, 2010)

CAPITULO II: METODOLOGÍA

2.1. Descripción y caracterización del lugar

En esta tesis de investigación se usó la metodología descriptiva, ya que permitió conocer temas de estudios experimentales en trabajos realizados en el área de alimentos y a su vez ponerlo en práctica en el laboratorio de química de la UTELVIT donde se aplicaron métodos de extracción de antocianinas, además se detallaron las características de las moras (*Morus nigra* + *Morus rubra*). al mismo tiempo se utilizó la ISO 22000 que trata sobre Sistema de Gestión de Seguridad Alimentaria, donde detalla que la vida útil de un producto debe ser documentada y estar al alcance de los consumidores. Para finalizar la delimitación temporal que se tomó para el desarrollo de esta investigación fue entre los años 2015-2021 y la recolección de información se extrajo de forma exhaustiva de diferentes medios bibliográficos.

2.2. Tipo de investigación

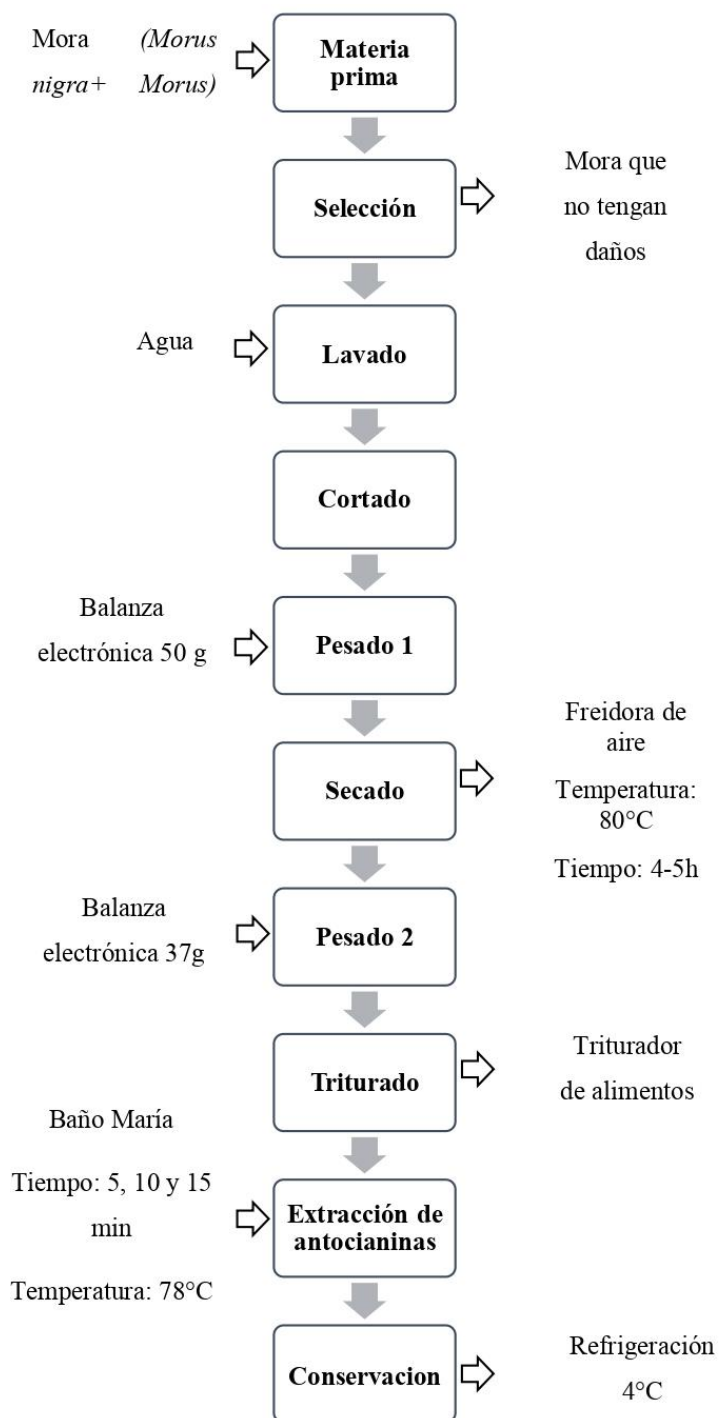
Observativo: Este tipo de investigación nos permitió reconocer técnicas y métodos de extracción de la antocianina de las moras (*Morus nigra* + *Morus rubra*). Además, ayudó a recopilar datos para determinar el cumplimiento y objetivos planteados.

De campo: Es de campo porque los datos serán obtenidos en un laboratorio con el equipamiento necesario para la extracción de la antocianina.

Bibliográfico: Nos permitió explorar todas aquellas bases conceptuales que se detallaron en el marco teórico de esta investigación mediante la indagación de diferentes medios bibliográfico como Scielo, Google académico, Science Direct, entre otros.

2.3. Métodos y técnicas

Diagrama de flujo para la extracción de antocianinas a partir de la mora (*Morus nigra* + *Morus rubra*)



Materia prima Mora (*Morus nigra* + *Morus rubra*):

Para la extracción de antocianinas, las moras tienen que estar en estado fresco.

Selección:

Se elimina la fruta que no tenga el grado de madurez adecuado o presente golpes o magulladuras.

Lavado:

Se hace para eliminar bacterias de la superficie, residuos de pesticidas y suciedad adherida a la fruta.

Cortado:

Se la corta la mora en pedazos pequeños para que así tenga un mejor secado.

Pesado 1:

Se realiza el pesado con una balanza electrónica con una cantidad de 50 g.

Secado:

De la muestra anteriormente desinfectada y cortada, se toman 50 g y se colocan dentro de la freidora de aire a 80 °C en un intervalo de 30 minutos hasta completar aproximadamente las 4-5 horas.

Pesado 2:

Luego que se realizó el secado, se procedió a hacer un nuevo pesado para comprobar los gramos de deshidratación de la fruta.

Triturado:

En este punto luego de que la muestra se haya secado, se tritura en un procesador de alimentos durante 2 minutos para disminuir el tamaño de la mora seca.

Extracción por Baño María

Se utilizó 1g de mora triturada y seca, además se le añadió 15 ml de etanol al 80% durante 5 minutos a 78°C, luego se ejecutó el mismo procedimiento a los 10 y 15 minutos. Después de un periodo de tiempo en baño maría, se deja reposar el extracto a temperatura ambiente y se filtra cuidadosamente. Los extractos fueron colocados en frascos de color ámbar sin tapa a temperatura ambiente en un lugar oscuro para concentrar el color del extracto de la mora, después que hayan pasado 6 días se envuelven los frascos en papel aluminio con refrigeración de 4°C para conservar el color. Este método fue el que sirvió para extraer el pigmento y hacer su posterior análisis y se van a medir a los días de viernes, martes y jueves.

Extracción por Soxhlet

Este proyecto de tesis se basó en el proceso de extracción Soxhlet, donde se realizaron dos pruebas, para ello se pesó 10 g del fruto seco previamente triturado, luego se colocaron en un papel filtro dentro del tubo extractor y se debe armar el equipo Soxhelt. En el balón se agregó 150 % de etanol durante 7 horas, en cambio para la segunda prueba se utilizó 130 % de etanol y 20 % de agua durante 6 horas para posteriormente ser calentado con precaución cuidando que el flujo de agua en el condensador sea suficiente, graduando la cantidad de calor suministrada para prevenir la ebullición violenta del etanol. Se debe mantener en calentamiento continuo para permitir la recirculación recurrente y suficiente reduciendo la coloración del extracto más solvente. Cabe recalcar que el extracto de este método no se utilizó para hacer análisis debido a que se carbonizó al utilizar el mechero el cual estaba a una temperatura muy alta para el solvente.

Variación de color en los extractos de antocianinas

Este análisis consiste en visualizar la presencia de antocianinas de las muestras extraída por el método baño maría en mora, donde se puede revelar que el cambio de color de violeta hacia el verde indica que existe presencia de fenolatos alcalinos.

Por otra parte, al añadir ácido clorhídrico a la misma muestra esta debe volver a la regeneración de color (violeta) y si no existe el cambio de color, indica que algo dentro

de las medidas adecuadas en la solución está fallando, por lo que se deberá repetir la prueba para ver si hay presencia de antocianinas.



Figura 9 Presencia de Fenolatos Alcalinos

Cromatografía de papel

La cromatografía consistió en ver la distancia recorrida (R_f) de las diferentes muestras en los distintos tiempos como lo son 5, 10 y 15 minutos, utilizando como fase móvil $\text{CH}_3\text{OH} + \text{H}_2\text{O}$ y como fase estacionaria papel filtro donde se utilizó vasos precipitación como cámara y una placa de Petri como tapa, luego se esperó unos minutos en cada una de la muestra hasta que llegue al frente del solvente, como se visualiza en la Figura 10.



Figura 10 Recorrido de la muestra.

Características organolépticas de los pigmentos antociánicos de la mora

Estas características organolépticas dentro de las muestras que se obtuvieron son su textura y color, generalmente éstas son percibidas por el consumidor, el cual al percibirlo pueden medir la calidad y frescura del alimento.

En la primera y segunda muestra no hubo variación de color, se mantuvo en un color similar a diferencia de la muestra 3 que fue un color lila llamativo el cual era el que se estaba buscando.

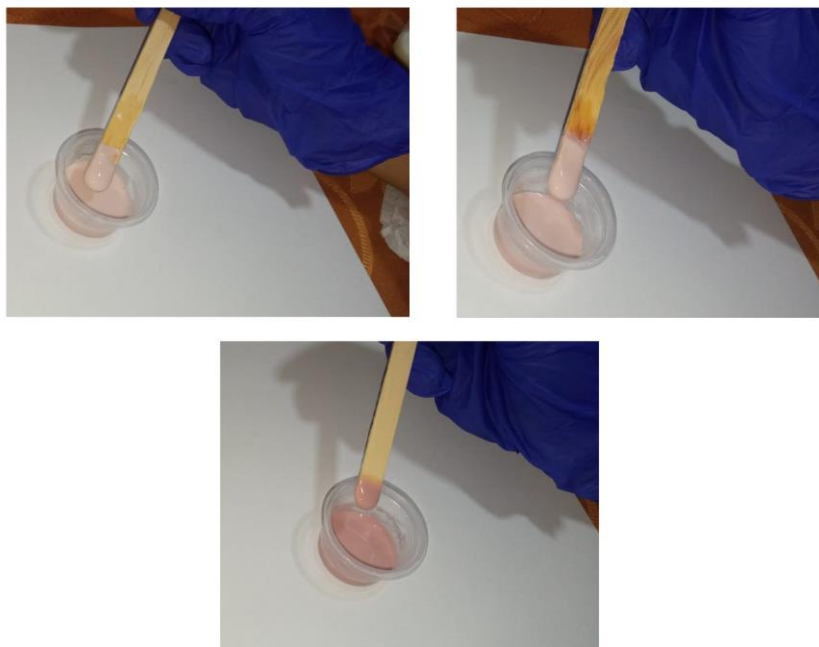


Figura 11 Características organolépticas de las antocianinas en el yogurt natural.

2.4. Población, muestra y muestreo

Población. Se recolectó y se utilizó moras (*Morus nigra* + *Morus rubra*) procedentes del Mercado Municipal de Esmeraldas.

Muestra. Se realizó separándose equivalente y aleatoriamente de 1-10 g para cada tipo de extracción (Método Soxhlet, método Baño María).

Muestreo. Se realizó el pesado del fruto triturado en una balanza electrónica con el fin de extraer los pigmentos de la mora y así realizar los análisis respectivos en laboratorio.

2.5. Técnicas de procesamiento para la obtención de antocianinas

Como técnica de análisis de las antocianinas se utilizaron dos métodos los cuales fueron (soxhlet y baño maría). Finalmente se hace un análisis fisicoquímico para ver el cambio de color y un análisis químico como la cromatografía de papel que se utiliza para separar los compuestos de una mezcla.

2.6. Normas éticas

En el desarrollo de este proyecto de tesis se respetaron las normativas, estructuras y leyes otorgadas por la universidad a la que estamos sujetos la cual es la UTELVT, esto para que la investigación se enmarque en lo estipulado por la ley. Así mismo se respetaron los derechos de autor de las fuentes que sirvieron para enriquecer la investigación, para ello se hicieron las correspondientes citas de fuentes bibliográficas y repositorios que existen como Scielo, Scopus y Science Direct, relacionados con la extracción de antocianinas de mora.

CAPÍTULO III: RESULTADOS

3.1. Análisis e interpretación de resultados

Extracción de antocianinas a baño maría

Tabla 7 Volúmenes de a extracción a baño maría.

TIEMPO	M1 (VOLUMEN)	M2 (VOLUMEN)	M3 (VOLUMEN)
T° 0	9.5 ml	7.4 ml	8 ml
T° 4	4.9 ml	4.7 ml	4.7 ml
T° 6	3.6 ml	2.9 ml	2.9 ml

M1= Muestra del extracto en baño maría 5 min.

M2= Muestra del extracto en baño maría 10 min.

M3= Muestra del extracto en baño maría 15 min.

T°= Tiempo de muestreo.

Extracción por Soxhlet

Tabla 8 Método por extracción Soxhlet

Masa	Concentraciones (%)	Temperatura	Tiempo	Volumen final
10 g	150% etanol	95 °C	7 h	119 ml
10 g	130% etanol- 20% agua	100 °C	6 h	124 ml

Variación de color en los extractos de antocianinas

Tabla 9 Variación de color en los extractos a baño maría en tiempo 5 minutos

REACTIVOS	N° DE GOTAS	VOLÚMEN	VARIACIÓN DE COLOR	TIEMPO DE PRUEBA 15 s.
NaOH	5	100 µl	Verde	2 s.
HCl	15	300 µl	Verde oscuro	4 s.
NH ₄ OH	5	100 µl	No hubo cambio de color	15 s.

Nota. En la Tabla 9 se puede observar mediante 3 pruebas en función del tiempo de 5 minutos, donde se hizo el análisis de cambio de color, dando como resultado que hay presencia de fenolatos alcalinos al añadirle NaOH, pero al momento de colocarle 15 gotas de HCl no hubo regeneración de color, mientras que en una nueva muestra de extracto situándole 5 gotas de NH₄OH no hubo cambio de color, siendo esto una de las pruebas no satisfactoria para usarlo en el área de alimentos, debido a que el color que estamos buscando es el violeta.

Tabla 10 Variación de color en los extractos a baño maría en tiempo 10 minutos.

REACTIVOS	N° DE GOTAS	VOLÚMEN	VARIACIÓN DE COLOR	TIEMPO DE PRUEBA 15 s.
NaOH	5	100 µl	Verde	2 s.
HCl	10	200 µl	Violeta	10 s.
NH ₄ OH	15	300 µl	Marrón	6 s.

Nota. En la Tabla 10 al igual que en la anterior tabla se observa mediante 3 pruebas en función del tiempo de 10 minutos, dando como resultado que hay presencia de fenolatos alcalinos al añadirle NaOH, pero al momento de colocarle 10 gotas de HCl hubo regeneración de color, mientras que en una nueva muestra de extracto situándole 5 gotas de NH₄OH hubo cambio de color, siendo esto una de las pruebas más satisfactoria para tomarla como base para el desarrollo del proyecto de tesis.

Tabla 11 Variación de color en los extractos a baño maría en tiempo 15 minutos.

REACTIVOS	N° DE GOTAS	VOLÚMEN	VARIACIÓN DE COLOR	TIEMPO DE PRUEBA 15 s.
NaOH	5	100 µl	Verde	2 s.
HCl	10	200 µl	Violeta	10 s.
NH ₄ OH	10	200 µl	Violeta oscuro	4 s.

Nota. Continuando con las secuencias de las tablas, en la Tabla 11 se muestra mediante 3 pruebas en función del tiempo de 15 minutos, dando como resultado que hay presencia de fenolatos alcalinos al añadir le NaOH, pero al momento de colocarle 10 gotas de HCl hubo regeneración de color, mientras que en una nueva muestra de extracto situándole 5 gotas de NH₄OH hubo cambio de color a un violeta más intenso, siendo esto una de las pruebas poca satisfactoria debido al cambio de color al añadirle NH₄OH.

Cromatografía de papel

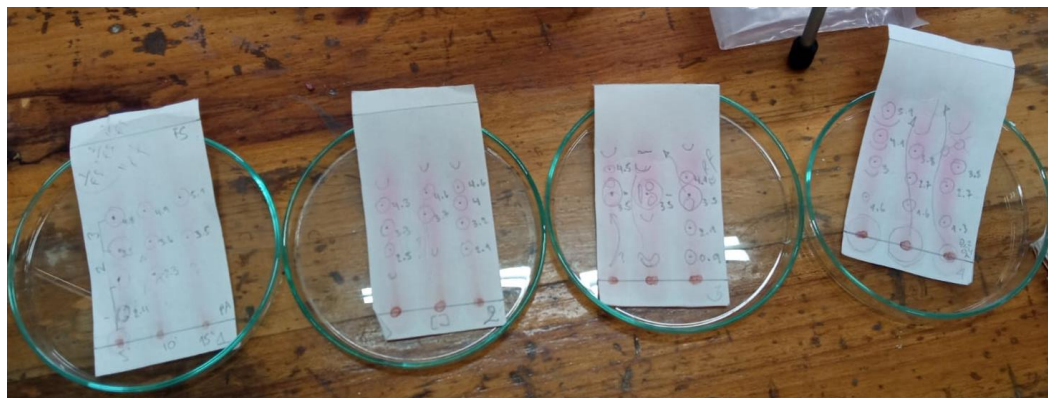


Figura 12 Puntos del Rf.

Tabla 12 Resultados de Rf en el tiempo de 5 minutos.

PRUEBAS		RF (cm)			PROMEDIO
1	0,3	0,4	0,6	-	0,4
2	0,3	0,4	0,5	-	0,4
3	0,4	0,6	-	-	0,5
4	0,2	0,4	0,5	0,6	0,4

Nota. En la Tabla 12 se detalla los Rf de cada una de las pruebas realizadas en el tiempo de 5 minutos y a su vez el promedio de cada una de las distancias que recorrió el extracto en el papel filtro. En la primera prueba hizo el recorrido con un promedio de 4,9 cm en 11 min, la segunda con un promedio de 4,5 cm en 12 min, la tercera un promedio de 3,8 cm en 15 min y la cuarta prueba un promedio de 4,1 cm en 17 min. El mejor resultado fue la prueba 2, debido a que el Rf fue continuo.

Tabla 13 Resultados de Rf en el tiempo de 10 minutos.

PRUEBAS		RF (cm)			PROMEDIO
1	0,3	0,5	0,6		0,5
2	0,5	0,6	-		0,6
3	0,4	-	-		0,4
4	0,2	0,3	0,5		0,3

Nota. En la Tabla 13 se detalla los Rf de cada una de las pruebas realizadas en el tiempo de 10 minutos y a su vez el promedio de cada una de las distancias que recorrió el extracto en el papel filtro. En la primera prueba hizo el recorrido con un promedio de 4,9 cm en 11 min, la segunda con un promedio de 4,5 cm en 12 min, la tercera un promedio de 3,8 cm en 15 min y la cuarta prueba un promedio de 4,1 cm en 17 min. El mejor resultado fue la prueba 2, debido a que el Rf fue continuo.

Tabla 14 Resultados de Rf en el tiempo de 15 minutos.

PRUEBAS		RF (cm)			PROMEDIO
1	0,4	0,6	-	-	0,5
2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,5
3	0,1	0,3	0,4	0,5	0,3
4	0,2	0,3	0,4	-	0,3

Nota. En la Tabla 14 se detalla los Rf de cada una de las pruebas realizadas en el tiempo de 15 minutos y a su vez el promedio de cada una de las distancias que recorrió el extracto en el papel filtro. En la primera prueba hizo el recorrido con un promedio de 4,9 cm en 11 min, la segunda con un promedio de 4,5 cm en 12 min, la tercera un promedio de 3,8 cm en 15 min y la cuarta prueba un promedio de 4,1 cm en 17 min. El mejor resultado fue la prueba 2, debido a que el Rf fue continuo.

Características organolépticas de los pigmentos antociánicos de la mora



Figura 13 Tiempo 5 minutos

Nota. Las características organolépticas de la Figura 13, al añadirle 5 ml de yogurt natural y 0.3 ml de pigmento da un color lila bajo.



Figura 14 Tiempo 10 minutos

Nota. Las características organolépticas de la Figura 14, al añadirle 5 ml de yogurt natural y 0.6 ml de pigmento da un color similar al de la Figura 13.



Figura 15 Tiempo 15 minutos

Nota. Las características organolépticas de la Figura 15, al añadirle 5 ml de yogurt natural y 1.1 ml de pigmento da el color deseado.

CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN

(Gong et al., 2021), mencionan desde la perspectiva de la transferencia de masa, el ultrasonido puede ejercer influencias positivas sobre y durante el secado, mientras que el pretratamiento con etanol que contiene ácidos fenólicos simplemente condujo al incremento de las reacciones de copigmentación entre las antocianinas de mora. Por otro lado, este proyecto de tesis para el tratamiento de secado, se utilizó una freidora de aire donde se pudo controlar la temperatura constante y el tiempo teniendo resultados satisfactorio con equipos proporcionados en casa durante la pandemia de Covid-19.

En los resultados del artículo de (Osvaldt Rosales et al., 2021) y sus colaboradores, proponen que mediante la encapsulación las nanopartículas tienen una excelente estabilidad física en diferentes rangos de pH que simulan matrices de alimentos. Por lo tanto, las nanopartículas elaboradas son estables y pueden ser efectivas para la protección de compuestos bioactivos, lo que es prometedor para la creación de nuevos aditivos alimentarios, para enriquecer los alimentos con compuestos bioactivos o incluso para desarrollar nuevos suplementos alimenticios. En el caso de este proyecto para poder conservar las antocianinas se utilizó colocarlo en un frasco de color ámbar, cubierta de papel de aluminio a una temperatura de 4°C y de esta forma poder conservar el color y el olor del extracto.

Por otro lado, (Rojas-aguilar and Correa-higuera, 2016) comentan que el mejor almacenamiento para los productos con antocianinas coloreadas o en presencia de estos pigmentos es a temperatura de refrigeración y en completa oscuridad, ya que estos parámetros tienen menor efecto sobre las antocianinas presentes en el tinte, en este caso en la mora de Castilla (*Rubus glaucus benth*). Estoy de acuerdo con el autor, debido a que ellos utilizan uno de los métodos de conservación más empleado según la literatura encontrada en diferentes bibliotecas virtuales sobre la extracción de antocianinas para obtener buenos resultados a la hora de conservar el pigmento.

(Gide, 1967) y sus colaboradores en el artículo que tiene como nombre Biosíntesis, funciones y aplicaciones de antocianinas, concuerda que se debe tener en cuenta que la variación espacial y temporal en la función de las antocianinas tiene el potencial de confundir los experimentos que tienen como objetivo probar la participación de las

antocianinas. Concuerdo con el autor, debido a que al utilizar las muestras y mezclarlo con el yogurt natural no hubo mucha variación de color en la prueba 1 y 2 al aplicarle 0.3 y 0.6 ml de extracto, el cual si confunde el reconocimiento de que haya una variación de color.

CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

Mediante esta investigación se puede concluir que el rápido avance de la tecnología en alimentos, ha permitido la obtención eficiente e identificación de compuestos de antocianinas de varias frutas aplicando métodos de extracción, para ser incorporados a la industria de alimentos y bebidas, ya sea como colorantes naturales, alimentos funcionales y suplementos alimenticios. Sin embargo, solamente un pequeño porcentaje de frutas que contiene antocianinas está siendo integrado en la industria de alimentos y bebidas, siendo la mora una de ellas.

En base a la comparación de los dos métodos propuestos y sus correspondientes análisis, se concluyó que el proceso que proporcionó un mejor rendimiento e intensidad de color correspondió a la extracción asistida por baño maría, esto aplicado en las moras adquiridas en el mercado de la provincia de Esmeraldas, en el que la muestra había sido previamente liofilizada y triturada, resultado el cual fue relevante. Los análisis utilizados para este proyecto fueron la variación de color, cromatografía de papel donde se obtuvieron resultados positivos y las características organolépticas de las antocianinas.

Finalmente, la función de los colorantes compuestos por antocianinas como materia prima para el posterior proceso de extracción es muy importante, pueden ser utilizados en alimentos como el yogurt, debido a que son pigmentos naturales, y tienen la capacidad de prevenir diversas enfermedades, según reportes de la literatura, tienen capacidad antioxidante, reducen enfermedades coronarias, anticancerígenas, antitumorales y otros efectos terapéuticos.

5.2. RECOMENDACIONES

Para la obtención de antocianinas se recomienda utilizar la mora, debido a que tienen mayor porcentaje de antocianinas, además sus principales vitaminas actúan como antioxidante y pueden ser aprovechadas para responder a las nuevas y crecientes necesidades de la sociedad actual.

Se recomienda que para evaluar los métodos de extracción de antocianina se utilice datos precisos sin importar números de muestras, ya que los promedios de estas determinaran los resultados finales.

Para determinar la posible utilización de los extractos se recomienda que una vez hecha la extracción se tiene que mantener el extracto en un lugar oscuro sin tapa para que se concentre la antocianina. Por último, refrigerar a 4°C para que así no pierda el color que se desea obtener a partir de la técnica de extracción a baño maría.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Asamblea Nacional Constituyente. (2010). Ley Organica del Regimen de la Soberania Alimentaria. *Ley Orgánica Del Regimen de La Soberanía Alimentaria*, 2(5), 255. <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/ecu88076.pdf>
- (2) Autoridad Nacional de Calidad. (2018). *Guías de Implantación de Sistemas de Gestión de la Seguridad Alimentaria*. 34. <https://doi.org/https://www.nqa.com/medialibraries/NQA/NQA-Media-Library/PDFs/Spanish%20QRFs%20and%20PDFs/NQA-ISO-22000-Guia-de-implantacion.pdf>
- (3) Badui, S. (2006). Salvador Badui Dergal. In *Química de los alimentos*. http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Libro-Badui2006_26571.pdf
- (4) Benavides, J. E., Turrialba, C. I., and Rica, C. (1996). *Para La Alimentacion Animal En El Tropico. tabla 2*.
- (5) Bridle, P., and Timberlake, C. F. (1997). Anthocyanins as natural food colours—selected aspects. *Food Chemistry*, 58(1–2), 103–109. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(96\)00222-1](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(96)00222-1)
- (6) Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M. de L., Páez-Hernández, M. E., Rodríguez, J. A., and Galán-Vidal, C. A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113(4), 859–871. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.001>
- (7) Castillo, G. (2016). *Extracción de colorante de col morada (Brassica oleraceae) para ser usado en la elaboración de una bebida* [UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO]. [http://repo.uta.edu.ec/bitstream/123456789/3331/1/P69 Ref.2958.pdf](http://repo.uta.edu.ec/bitstream/123456789/3331/1/P69%20Ref.2958.pdf)
- (8) Cifuentes, C. A. y S. K.-W. (1998). *Manual técnico de sericultura: Cultivo de la morera y cría del gusano de seda en el trópico* (C. SENA-CDTS (Ed.); Convenio S). Convenio SENA-CDTS. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=2632417&pid=S0798-7269200900040000100011&lng=es

- (9) CONSTITUCIÓN DEL ECUADOR. (2012). *Educación*, 17; 20.
<https://educacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2012/08/Constitucion.pdf>
- (10) Corzo, A. (2019). Técnicas de análisis en química orgánica: cromatografía. In *Universidad Nacional de Santiago del Estero - UNSE. [Cátedra de Química orgánica y biológica]*.
- (11) Fan, G., Han, Y., Gu, Z., and Gu, F. (2008). Composition and colour stability of anthocyanins extracted from fermented purple sweet potato culture. *LWT - Food Science and Technology*, 41(8), 1412–1416. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.09.003>
- (12) Garzón, G. A. (2010). Anthocyanins as natural colorants and bioactive compounds. a review. *Acta Biológica Colombiana*, 13(3), 27–36.
- (13) Garzon Gloria Astrid. (2008). LAS ANTOCIANINAS COMO COLORANTES NATURALES Y COMPUESTOS BIOACTIVOS: REVISION. *Acta Biológica Colombiana*, 13, 27–36.
http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-548X2008000300002&nrm=iso
- (14) Gide, A. (1967). Anthocyanins Biosynthesis, Functions, and Applications. In *Angewandte Chemie International Edition*, 6(11), 951–952.
<https://doi.org/10.1007/978-0-387-77335-3>
- (15) Gong, W., Li, D., Wu, Y., Manickam, S., Sun, X., Han, Y., Tao, Y., and Liu, X. (2021). Sequential phenolic acid co-pigmentation pretreatment and contact ultrasound-assisted air drying to intensify blackberry drying and enhance anthocyanin retention: A study on mass transfer and phenolic distribution. *Ultrasonics Sonochemistry*, 80, 105788.
<https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2021.105788>
- (16) González-Manzano, S., Dueñas, M., Rivas-Gonzalo, J. C., Escribano-Bailón, M. T., and Santos-Buelga, C. (2009). Studies on the copigmentation between anthocyanins and flavan-3-ols and their influence in the colour expression of red wine. *Food Chemistry*, 114(2), 649–656. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.10.002>
- (17) Guerrero-Beltrán, A. C.-S. y J. A. (2017). *Pigmentos en frutas y hortalizas rojas:*

antocianinas. TSIA UDLAP. <https://tsia.udlap.mx/pigmentos-en-frutas-y-hortalizas-rojas-antocianinas/>

- (18) Hellström, J., Mattila, P., and Karjalainen, R. (2013). Stability of anthocyanins in berry juices stored at different temperatures. *Journal of Food Composition and Analysis*, 31(1), 12–19. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.02.010>
- (19) Hora, D. la. (2021, June 6). La mora, comerciantes del mercado central de esmeraldas. *Diario La Hora*, 1. <https://doi.org/https://www.lahora.com.ec/esmeraldas/esmeraldas-comerciantes-del-mercado-piden-ser-vacunados/>
- (20) Inostroza, L. A., Castro, A. J., Hernández, E. M., Carhuapoma, M., Yuli, R. A., Collado, A., and Córdova, J. S. (2015). ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE *Tropaeolum tuberosum* RUIZ & PAVÓN (MASHUA) Y SU APLICACIÓN COMO COLORANTE PARA YOGUR. *Ciencia e Investigación*, 18(2), 83–89. <https://doi.org/10.15381/ci.v18i2.13615>
- (21) Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T., and Lim, S. M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food and Nutrition Research*, 61(1), 0–21. <https://doi.org/10.1080/16546628.2017.1361779>
- (22) Ley Orgánica de Salud. (2015). Ley organica de salud del Ecuador. *Plataforma Profesional de Investigacion Jurídica, Registro O*, 13.
- (23) Miyazawa, T., Nakagawa, K., Kudo, M., Muraishi, K., and Someya, K. (1999). Direct intestinal absorption of red fruit anthocyanins, cyanidin-3-glucoside and cyanidin-3,5-diglucoside, into rats and humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(3), 1083–1091. <https://doi.org/10.1021/jf9809582>
- (24) Molaefard, S., Jamei, R., and Poursattar Marjani, A. (2021). Co-pigmentation of anthocyanins extracted from sour cherry (*Prunus cerasus* L.) with some organic acids: Color intensity, thermal stability, and thermodynamic parameters. *Food Chemistry*, 339(September 2020), 128070. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128070>
- (25) Moraes, D. P., Chim, J. F., Barin, J. S., Vizzotto, M., Farias, C. A. A., Ballus, C. A.,

- and Barcia, M. T. (2021). Influence of the cultivar on the composition of blackberry (*Rubus* spp.) minerals. *Journal of Food Composition and Analysis*, 100(December 2020). <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.103913>
- (26) Mosquera, V. B., Alwang, J., Andrango, G., Domínguez, J., Escudero, L., Martínez, A., Tech, V., Economía, D. De, and Principal, P. (2016). Tipificación de los productores de mora de Ecuador para optimizar sus estrategias de medios de vida Ecuadorian blackberry producers ' typification to optimize their livelihood strategies INIAP - Estación Experimental Santa Catalina INIAP - Estación Experi. *Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias de Ecuador*, 23. <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/4660/1/iniapscCD199.pdf>
- (27) Nuñez, A. (2012). Producción de uva de mesa. *Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro" - Mexico*, 21–74. [http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/2212/ANTONIO NU%D1EZ VILLANUEVA.pdf?sequence=1](http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/2212/ANTONIO%20NU%20D1EZ%20VILLANUEVA.pdf?sequence=1)
- (28) Osvaldt Rosales, T. K., Pessoa da Silva, M., Lourenço, F. R., Aymoto Hassimotto, N. M., and Fabi, J. P. (2021). Nanoencapsulation of anthocyanins from blackberry (*Rubus* spp.) through pectin and lysozyme self-assembling. *Food Hydrocolloids*, 114, 106563. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106563>
- (29) PCE. (2016). *Instrumentos de medicion, cromatografía en papel*. PCE Instrumentacion En Web. <https://www.pce-iberica.es/instrumentos-de-medida/instrumentos-laboratorios/cromatografia.htm#:~:text=La diferencia entre ambos procedimientos,sitúan sobre plaquitas de vidrio.>
- (30) Pomilio, B. (2012). Investigación en Química de Productos Naturales en Argentina : Vinculación con la Bioquímica Development and Research Trends in Chemistry. In A. B. C. Latinoamericana (Ed.), *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana* (Vol. 46, pp. 73–82). Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires. <https://www.redalyc.org/pdf/535/53522610011.pdf>
- (31) Rein, M. J. (2018). Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins. In *Dissertation Uni Helsinki*.

- (32) Restrepo, J., and Sánchez, R. (2011). Manejo fitosanitario del cultivo del mora (Rubus glaucus Benth) Medidas para la temporada invernal. *Instituto Colombiano Agropecuario (ICA)*, 00.09.41.1, 32. <https://www.ica.gov.co/getattachment/b7e061eb-ebd3-4f80-9518-c771712405eb/-nbsp3bmanejo-fitosanitario-delcultivo-de-la-mora.aspx>
- (33) Rojas-aguilar, N. Y., and Correa-higuera, L. J. (2016). Obtención de un colorante natural alimentario de mora de Castilla (Rubus glaucus benth). *Ciencia En Desarrollo*, 2(2), 115–130. <https://doi.org/10.19053/01217488.260>
- (34) Ronald S. Kirk, Harold Egan, R. S. (1996). Composición y análisis de alimentos de pearsonas. *Grupo Patria Cultural S.A., First Edit*(October), 773. http://biblioteca.uteq.edu.ec/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=6735&shelfbrowse_itemnumber=35160
- (35) Ruiz, M. P. A. (2019). OBTENCIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE SEMILLA DE DURAZNO POR MÉTODO SOXHLET Y ARRASTRE DE VAPOR. *Repository Uamerica*, 53. <https://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/7713/1/6142362-2019-2IQ.pdf>
- (36) Sánchez, M. D. (2002). World distribution and utilization of mulberry and its potential for animal feeding. *Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) Rome Italy*, 9251045682, 1–9. <https://www.cabi.org/ISC/abstract/20023111035>
- (37) Sceni, Mabel Rembado, P. (2009). *Colección: Colección: LAS CIENCIAS NATURALES Y LA MATEM MATEMÁTICA*.
- (38) Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo. (2017). *Plan Nacional de Desarrollo 2017-2021-Toda una Vida*. 84. http://www.planificacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2017/10/PNBV-26-OCT-FINAL_0K.compressed1.pdf
- (39) Shrikhande, A. J. (1976). Anthocyanins in foods. *C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 7(3), 193–218. <https://doi.org/10.1080/10408397609527207>
- (40) Willstätter, R. (1916). *Estudio de los pigmentos vegetales (clorofila)*. 1. <https://es.scribd.com/document/375962655/Richard-Wilstatter>

- (41) Winefield, K. G. K. D. C. (1967). Anthocyanins Biosynthesis, Functions, and Applications. In *Angewandte Chemie International Edition*, 6(11), 951–952.
- (42) Zapata, L. M. (2014). Obtención de Extracto de Antocianinas a Partir de Arándanos para ser Utilizado como Antioxidante Y Colorante en la Industria Alimentaria. *Universitat Politècnica de Valencia*, 1–248.
[https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/39105/Versión_3_Tesis_Luz_Marina_Zapata.pdf %281%29.PDF?sequence=21](https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/39105/Versión_3_Tesis_Luz_Marina_Zapata.pdf%281%29.PDF?sequence=21)

ANEXOS

Anexo A

Secado de la mora



Anexo 1 Deshidratado y triturado de las moras.



Anexo 3 Envasado de los extractos a los distintos tiempos.

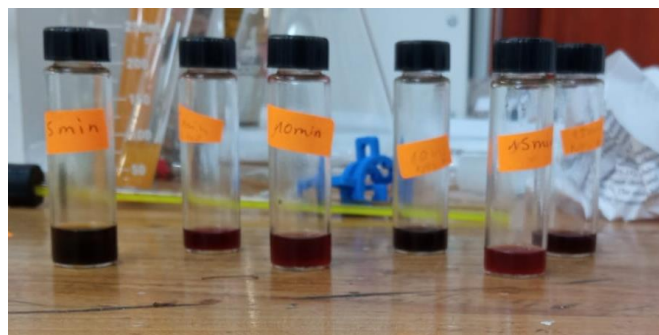
Anexo 2 Procedimiento de baño maría.

Anexo B

Variación de color



Anexo 5 Toma de muestras y colocación de los reactivos.



Anexo 4 Determinación de colores a distintos tiempos.

Cromatografía de papel



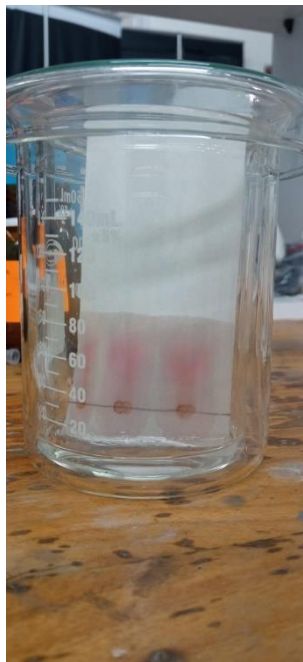
Anexo 6 Lavado de materiales a utilizar.



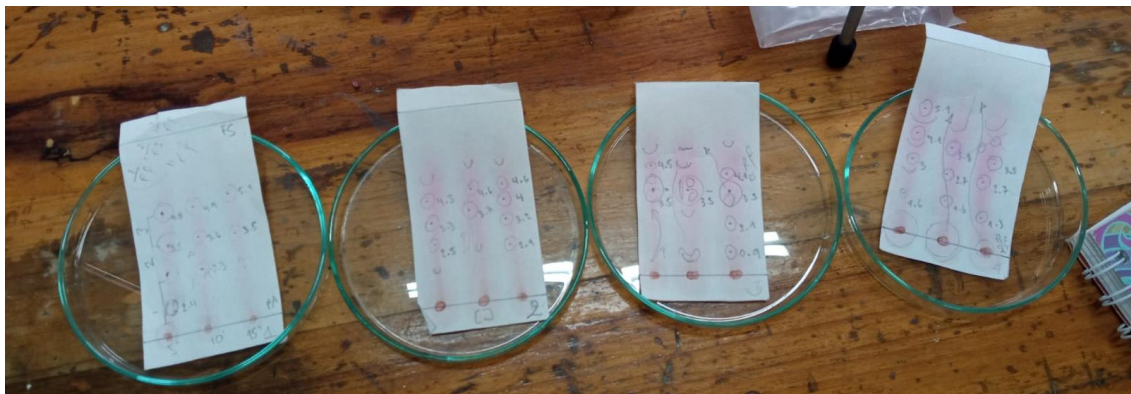
Anexo 7 Toma de muestras para hacer la cromatografía.



Anexo 8 Colocación del papel en la cámara cromatográfica con el solvente y recorrido de los extractos.



Anexo 9 Aplicación de los puntos de muestras al papel.



Anexo 10 Medición en cada punto.

Características organolépticas de los pigmentos antociánicos



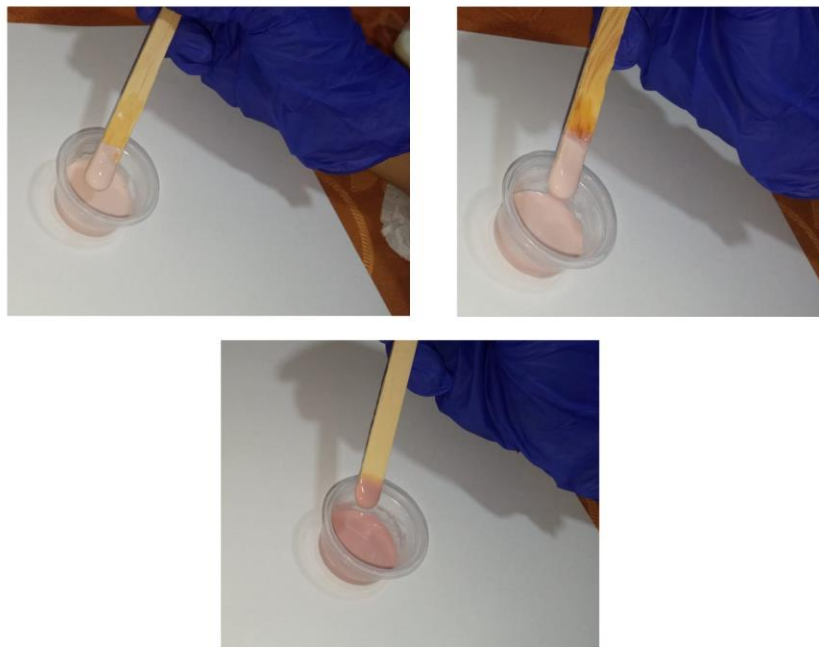
Anexo 11 Materiales a utilizar para ver las características organolépticas.



Anexo 12 Toma de muestra de antocianina.



Anexo 13 Puesta de antocianinas al yogurt natural.



Anexo 14 Resultado final.