

# UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA CARRERA ALIMENTOS



Estudio de la estabilidad del colorante extraído del rábano (*Raphanus sativus*) en una bebida no carbonatada base

Informe Final de Integración Curricular, Modalidad Proyecto de Investigación previo a la obtención del título de Ingeniero en Alimentos, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología

Autor: Silva Ayala José Ignacio

Tutor: Dra. Dayana Cristina Morales Acosta

Ambato - Ecuador Marzo - 2023

# APROBACIÓN DEL TUTOR

Dra. Dayana Cristina Morales Acosta
Certifica:
Que el presente Informe Final de Integración Curricular ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Informe Final de Integración Curricular, bajo la modalidad de Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.
Ambato, 13 febrero del 2023
Dra. Dayana Cristina Morales Acosta  C.I. 1804135570

Tutora

## DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, José Ignacio Silva Ayala, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Informe Final de Integración Curricular, modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniero en Alimentos, son absolutamente originales, auténticos y personales, a excepción de las citas bibliográfica.

José Ignacio Silva Ayala

C.I 1805293717

**Autor** 

# APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Informe Final de Integración
Curricular, modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de
conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en
Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato
Por constancia firma:
For constancia in ma.
Presidente de Tribunal
Dr. Vilcacundo Chamorro Rubén Darío
C.I. 1802738102
Mg. Sánchez Garnica Manoella Alejandra
C.I. 0604079871

Ambato, 16 de marzo del 2023

#### **DERECHOS DE AUTOR**

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Informe Final de Integración Curricular o parte de él, un documento disponible para su lectura consulta y proceso de investigación según las normas de la Institución

Cedo los derechos en línea patrimoniales de mi Informe Final de Integración Curricular, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos como autor.

José Ignacio Silva Ayala

1805293717

**Autor** 

#### **DEDICATORIA**

Este trabajo se lo dedico a mis amados padres Diego Silva y Gabriela Ayala, les agradezco de todo corazón por todo el apoyo incondicional, confianza y esfuerzo que permitieron la culminación de esta etapa estudiantil. Trabajaré duro para recompensarles todo el tiempo y trabajo que dedicaron para formarme como persona y ahora como profesional, son un ejemplo de responsabilidad, amor, bondad y esfuerzo en el día a día. Los admiro mucho y siempre serán mi ejemplo en todas las etapas de mi vida.

También quiero dedicar este trabajo a mis hermanos Pablo, Diego y Octavio, son mi ejemplo de felicidad en los momentos más difíciles y a no rendirme a pesar de los problemas que se presenten. A todos, gracias por no dejarme solo y creer en mí.

José Ignacio Silva Ayala

#### **AGRADECIMIENTO**

Agradezco de corazón a mi papá y a mi mamá por siempre estar para mí y darme todo el apoyo incondicional, siempre serán mi ejemplo a seguir tanto como persona de bien y ahora como profesional, mi objetivo comprometido con ustedes es apoyarles y trabajar juntos para poder cumplir los sueños que tenemos para la empresa, que se ha construido por años, gracias por confiar en mí palpi Diego y malmi Gaby. Los amo mucho.

A mis hermanos Pablo, Diego y Octavio que a pesar de siempre acabar con mi paciencia son pilares fundamentales en mi vida, en situaciones complicadas saben cómo sacar una sonrisa y siempre están con el ánimo por los cielos. Gracias por siempre hacerme reír y levantarme el ánimo en los momentos más difíciles.

Quiero agradecer a Dios por poder culminar esta etapa estudiantil y convertirme en un profesional, la oportunidad es brindada por Dios.

A la Universidad Técnica de Ambato por darme la oportunidad de estudiar, pero en especial a la Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología por su prestigio en la carrera de Ingeniería en Alimentos que durante 5 años me ha formado como profesional.

A mi tutora, PhD. Dayana Morales por la paciencia, apoyo y confianza que permitió la culminación de este proyecto.

A todos los docentes que me brindaron su conocimiento tanto teórica como experimental y que supieron brindar consejos para mi vida.

A mi pareja Dennys, mis amigas Yadira y Mechita por siempre estar para mi apoyándome, recordándome deberes y hacerme reír en momentos complicados, son muy especial para mí.

¡Les agradezco por todo!

# ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR	ii
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD	iii
APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO	iv
DERECHOS DE AUTOR	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE TABLAS	xii
RESUMEN	xiii
ABSTRACT	xiv
B. CONTENIDOS	1
CAPÍTULO 1	1
MARCO TEÓRICO	1
1.1. Antecedentes Investigativos	1
1.1.1. Aditivos alimentarios	1
1.1.1.1. Edulcorantes	1
1.1.1.2. Conservantes	2
1.1.1.3. Antioxidantes	2
1.1.1.4. Acidulantes	2
1.1.1.5. Saborizantes	3
1.1.1.6. Gelificantes	3
1.1.1.7. Estabilizantes	3

1.1.1.8. Colorantes	4
1.1.1.8.1. Colorantes Artificiales	4
1.1.1.8.2. Colorantes naturales	6
1.1.2. Rábano	7
	8
	lor9
	10
1.1.3. Técnica de cuantificación por espectro	
1.2. Objetivos	12
1.2.1. Objetivo General	12
1.2.2. Objetivos Específicos	12
1.3. Hipótesis	12
1.3.1. Hipótesis nula	12
1.3.2. Hipótesis alternativa	
CAPÍTULO II	
MATERIALES Y MÉTODOS	
2.1. Materiales	14
2.2. Métodos	14
2.2.1. Obtención del rábano en polvo	14
2.2.2. Extracción del colorante del rábano po	or el método de agitación15
2.2.3. Extracción del colorante del rábano po	or el método de ultrasonido15
2.2.4. Identificación del mejor método de ex	tracción y secado de los colorantes
de los métodos anteriores	15
2.2.4.1. Cálculo de concentración de anto	cianinas16
2.2.5. Preparación de una bebida no carbona	tada17

2.2.5.1.	Medición de iones de hidrógeno (pH)	17
2.2.5.2.	Medición de sólidos solubles	18
2.2.6. Dis	seño factorial	18
2.2.7. An	álisis de estabilidad	18
CAPITULO III		20
RESULTADOS	Y DISCUSIÓN	20
3.1. Análisi	is y discusión de resultados	20
3.1.1. Ide	entificación del mejor método de extracción en base a la conce	ntración
de antociani	inas	20
3.1.1.1.	Extracción por agitación y ultrasonido	20
3.1.2. Est	tudio de la estabilidad del colorante extraído	22
3.1.2.1.	Medición de iones de hidrógeno (pH)	22
3.1.2.2.	Medición de sólidos solubles	24
3.1.2.3.	Estabilidad del colorante aplicado en la bebida no carbonata	da base 26
3.1.3. An	álisis de la influencia de la temperatura y luz	27
3.1.3.1.	Resultados de la influencia de la temperatura en la estabilida	d del
colorante		27
3.2.3. Ve	rificación de hipótesis	30
CAPÍTULO IV		31
CONCLUSIONE	ES Y RECOMENDACIONES	31
4.1. Conclu	ısiones	31
4.2. Recom	nendaciones	32
C. MATERIAI	LES DE REFERENCIA	33
Ribliografía		33

# ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

# ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Provincias del Ecuador donde se cultiva rábano	10
Figura 2.	Estructura química de la pelargodinia-3-O-glucósido	11
Figura 3.	Estabilidad del colorante a 4, 20 y 38°C	29
Figura 4.	Estabilidad del colorante con influencia de la luz y sin luz	30
Figura 5.	Curva de concentración de antocianinas	43
Figura 6.	Curva de la media del colorante en los 15 días	45
Figura 7.	Curva de estabilidad del colorante	45
Figura 8.	Curva comparativa de la estabilidad del colorante	46
Figura 9.	Estabilidad de pH en 15 días	46
Figura 10.	Estabilidad de °Brix	47
Figura 11.	Diseño factorial de la influencia de estabilidad de cada tratamiento	47
Figura 12.	Extracción y aplicación del colorante	49

# ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Colorantes artificiales permitidos
Tabla 2.	Colorantes naturales permitidos
Tabla 3.	Valor nutricional del rábano
Tabla 4.	Información taxonómica del rábano
Tabla 5.	Longitud de onda de máxima absorbancia de diferentes antocianinas11
Tabla 6.	Formulación base para un litro de bebida no carbonatada
Tabla 7.	Concentración de antocianinas obtenidas por dos métodos de extracción20
Tabla 8.	Media y desviación estándar de pH de cada tratamiento durante 15 días de
almacenan	niento de la bebida no carbonatada
Tabla 9.	Media y desviación estándar de grados Brix durante 15 días de
almacenan	niento de la bebida no carbonatada25
Tabla 10.	Absorbancia máxima del pigmento en los diferentes tratamientos26

#### **RESUMEN**

Los alimentos están ligados a diversos atributos sensoriales como el olor, el sabor, la textura y el color. En la industria alimentaria varias son las sustancias que se emplean para mejorar o resaltar esas cualidades organolépticas. Son los denominados aditivos alimentarios, sustancias añadidas con un fin positivo y bajo ningún concepto para enmascarar la mala calidad de un alimento.

Estas sustancias son ocupadas muy comúnmente por las industrias de alimentos, principalmente los colorantes artificiales, los cuales pueden estar relacionados con la generación de alergias sobre todo en niños. La industria busca su sustitución por colorantes naturales. El colorante a partir del rábano es una alternativa para su uso en diferentes alimentos procesados, pero su estabilidad no es lo suficientemente buena en comparación con los artificiales.

Se realizó la extracción del colorante a partir del rábano y se probaron diferentes condiciones de almacenamiento de una bebida no carbonatada, para comprobar la estabilidad de las antocianinas extraídas. Estos pigmentos demostraron baja estabilidad ante el efecto de la luz led y en cuanto a la temperatura, el almacenamiento a 38 grados centígrados provocó una mayor degradación del colorante.

#### **Palabras Clave:**

Industria Alimentaria, Antocianinas, Colorante Natural, Colorante Artificial, Rábano, Aditivos Alimentarios

#### **ABSTRACT**

Food is linked to various sensory attributes such as smell, taste, texture and color. In the food industry there are several substances that are used to improve or highlight these organoleptic qualities. They are the so-called food additives, substances added with a positive purpose and under no circumstances to mask the poor quality of a food.

These substances are very commonly used by food industries, mainly artificial colors, which may be related to the generation of allergies especially in children. The industry seeks its replacement by natural dyes. The coloring from radish is an alternative for use in different processed foods, but its stability is not good enough compared to artificial ones.

The dye was extracted from the radish and different storage conditions of a non-carbonated beverage were tested to check the stability of the extracted anthocyanins. These pigments demonstrated low stability to the effect of LED light and in terms of temperature, storage at 38 degrees Celsius caused greater degradation of the dye.

#### **Keywords:**

Food Industries, Anthocyanins, Natural Coloring, Artificial Coloring, Radish, Food Additives

#### **B. CONTENIDOS**

#### **CAPÍTULO 1**

#### MARCO TEÓRICO

#### 1.1. Antecedentes Investigativos

#### 1.1.1. Aditivos alimentarios

Los alimentos están ligados a diferentes atributos sensoriales como son el aroma, la textura, el gusto y el color, que generan un mayor o menor grado de aceptación por parte del consumidor. Sin embargo, el procesamiento tecnológico puede provocar una disminución de estos atributos debido a los cambios fisicoquímicos que ocurren en la matriz. A nivel de la industria alimentaria el uso de sustancias que resalten estas cualidades es cada vez más común con el fin de obtener un mayor grado de aceptabilidad en el producto final (Utset, 2020). Estos son los denominados aditivos alimentarios que según la norma NTE INEN (2011) son aquellas sustancias que no se consumen normalmente en un alimento, añadidas de manera intencional para un fin positivo en el producto y no para enmascarar la mala calidad del mismo, además que no se usa como materia prima para la elaboración de los alimentos. Los aditivos alimentarios, pueden clasificarse en edulcorantes, conservantes, antioxidantes, acidulantes, saborizantes, gelificantes, estabilizantes y colorantes entre los más importantes y usados en las industrias (Qiu et al., 2020; Tovar et al., 2012).

#### 1.1.1.1 Edulcorantes

Los edulcorantes tienen como principal característica el aporte de sabor dulce, similar al del azúcar en los alimentos. Se divide en edulcorantes no nutritivos que son aquellos que se han sintetizado químicamente tales como sacarina, aspartame o acesulfame y los edulcorantes naturales que se obtienen de fuentes naturales principalmente de plantas

como la stevia o la taumatina. El uso de los edulcorantes en los alimentos es para eliminar el aporte calórico y para sustituir parcial o completamente el uso de azúcar en los productos terminados (**Stephens-Camacho et al., 2018**).

#### 1.1.1.2. Conservantes

Los conservantes son usados para prolongar el tiempo de vida útil de cualquier producto, actúan principalmente previniendo o deteniendo el deterioro que puede darse por acción de los microorganismos. Estos son usados en alimentos como embutidos, bebidas carbonatadas y no carbonatadas, enlatados, licores y jugos; ejemplos de esta clase de aditivos son los parabenos, sulfitos, nitritos, el benzoato de sodio y el sorbato de potasio (Velázquez-Sámano et al., 2019).

#### 1.1.1.3. Antioxidantes

Los antioxidantes son utilizados principalmente en alimentos que contengan grasa vegetal o grasa animal ya que son los principales en sufrir procesos oxidativos. Antioxidantes como el ácido ascórbico, ascorbato sódico o ascorbato cálcico prolongan el tiempo de vida útil en productos como cereales, panificación o aceites y además son hidrosolubles (Velázquez-Sámano et al., 2019).

#### 1.1.1.4. Acidulantes

Este aditivo alimentario tiene la capacidad de modificar y controlar el pH de un alimento, entre los más utilizados está el ácido cítrico que se puede encontrar en frutas cítricas como limón, mandarina, naranja, entre otros; pero también se puede sintetizar químicamente. Otro de los más utilizados es el ácido ascórbico o vitamina C y que en la actualidad en numerosos alimentos para niños es añadido, existen otros acidulantes como por ejemplo el ácido tartárico, málico y fumárico (**Milagro et al., 2019; Segovia et al., 2022**).

#### 1.1.1.5. Saborizantes

Son aditivos que pueden ser obtenidos por dos medios diferentes ya sea natural o artificial. Los saborizantes naturales provienen de frutas, extractos, cortezas o aceites esenciales, logrando un sabor idéntico al natural en un producto procesado. Los saborizantes artificiales son obtenidos por procesos químicos y tienen el mismo fin que los naturales. Estos aditivos se encuentran en la mayoría de los alimentos actuales ya que ayudan a resaltar el sabor (**Bautista & Mora, 2019**).

#### 1.1.1.6. Gelificantes

Este aditivo es utilizado para espesar y estabilizar alimentos que sean líquidos o sólidos brindándoles viscosidad y consistencia sin cambiar su sabor original. Los gelificantes tienen la capacidad de absorber una parte líquida de los alimentos para así obtener una apariencia más sólida y pueden ser usados en helados, yogures, confitería, entre otros. Los gelificantes utilizados en las industrias de alimentos son la goma xantana, pectina, carboximetil celulosa, carreganato sódico, goma guar, goma arábiga. etc (Martínez et al., 2018).

#### 1.1.1.7. Estabilizantes

Estos son capaces de unir una o más sustancias inmiscibles en un alimento, es decir, evitan que se separen los componentes e incrementan la viscosidad haciendo que un producto sea física y químicamente más estable. Estos se pueden usar en yogur, helado, bebidas lácteas, confites, jugos naturales, masas, entre otros. En el caso del helado ayuda a prevenir la separación de la grasa y retarda el crecimiento de cristales de hielo en el proceso de congelación lo que beneficia a la calidad sensorial del producto final (**Posada et al., 2012**).

#### **1.1.1.8.** Colorantes

Los colorantes alimentarios son aditivos que se han utilizado desde hace 3000 años, cuando los egipcios los empleaban para añadir color a diversos productos que consumían principalmente confites. En los siglos XVIII y XIX el uso de colorantes era cada vez más común para presentar productos de mejor calidad cuando en realidad estos alimentos estaban en mal estado, este tipo de acciones se mantuvo hasta el año 1994 cuando la Unión Europea publicó la Directiva 94/36/CE donde se detalla el uso de los colorantes alimenticios y bajo qué condiciones se puede emplear en los productos terminados. Es importante resaltar que los consumidores responden al color de los alimentos asociándolos con diferentes características como su frescura, sabor o calidad, llegando a influir de manera significativa en la preferencia de un producto sobre otro. Por esta razón el uso de colorantes es una práctica muy extendida en las industrias alimenticias por sus diversas funciones y ventajas (Hernández, 2010, Astiasaran & Anchía, 2003).

Las principales funciones de los colorantes son: realzar o intensificar el color, restaurar las pérdidas de color que haya sufrido un alimento durante su proceso tecnológico, mejorar el aspecto visual, corregir variaciones de color en el tiempo de vida útil y brindar un aspecto natural a los productos (Hernández, 2010, Kraser & Hernández, 2019).

Se dividen en colorantes artificiales o sintéticos obligados a llevar certificación y naturales (Llerena, 1995).

#### 1.1.1.8.1. Colorantes Artificiales

Son los más utilizados en las industrias alimentarias (Tabla 1) por la alta gama de colores que presentan, sin embargo, están obligados a llevar una certificación en la que se detalla las especificaciones de uso para su aplicación segura en los alimentos. Dentro de las normas del **Codex Alimentarius** (2021), se menciona que la pureza debe ser como mínimo del 85%, y que los procesos de extracción, separación e identificación del

colorante son parámetros primordiales a tener en cuenta (Bolaños et al., 2003, Vázquez et al., 2016).

Estos colorantes presentan como ventajas su estabilidad frente a tratamientos térmicos, luz, pH ácido o básico, además son solubles en agua, tienen bajo costo, alto rendimiento y pueden ser aplicados en la mayoría de los alimentos (**López, 2018, Calvo, 2020**).

Las desventajas de los colorantes artificiales se relacionan principalmente con la salud del consumidor. **Sánchez, (2013)** indica que el consumo prolongado de productos alimenticios que contengan colorantes puede provocar el desarrollo de alergias, indicios de asma y en ciertos casos hiperactividad en los niños (**Calvo, 2020**).

**Tabla 1.** Colorantes artificiales permitidos

Código	Nombre
E-102	Tartrazina
E-104	Amarillo de quinoleína
E-110	Amarillo anaranjado 5
E-122	Azorrubina (Carmosina)
E-123	Amaranto
E-124	Rojo cochinilla A (Ponceau 4 R)
E-127	Eritrosina
E-129	Rojo allura AC
E-131	Azul patente V
E-132	Indigotina (Carmín de índigo)
E-133	Azul brillante FCF
E-142	Verde ácido brillante BS (Vede lisamina)
E-151	Negro brillante BN, Negro PN
E-154	Marrón FK (Pardo FK)
E-155	Marrón HT (Pardo HT)
E-180	Litolrubina BK

Elaborado por: Silva, J. Adaptado de: (Hernández, 2010, NTE INEN, 2012).

#### 1.1.1.8.2. Colorantes naturales

Son extraídos de fuentes naturales provenientes de materia animal, vegetal o mineral (Blucher et al., 2020). Los principales grupos de colorantes naturales son las antocianinas, betalaínas, carotenoides, clorofilas, riboflavina, carmín, caramelo, entre otros y brindan una extensa gama de colores para su uso en la industria alimentaria. Productos como la remolacha, tuna roja, tuna morada, flores, bayas, mora, cochinilla, cúrcuma, achiote o rábano sirven como materia prima para la extracción de diversos colorantes naturales (Bolaños et al., 2003, Llerena, 1995).

El incremento de colorantes naturales en las industrias alimenticias es para sustituir a los colorantes artificiales, dado los efectos secundarios que estos pueden acarrear. Colorantes como la tartrazina puede ser sustituida por carotenoides, el colorante rojo ponceau puede ser remplazado por las betalaínas y las antocianinas pueden remplazar al rojo brillante o azul violeta (Salcedo, 2021, Villota et al., 2019).

En los alimentos, colores como rojo y violeta son altamente solicitados por la influencia que estos tienen en el consumidor. Dichos colores se obtienen de hortalizas como la remolacha (betalaínas) y el rábano (antocianinas); la tonalidad dependerá de la acidez del medio (Nations, 2018).

Los colorantes naturales (Tabla 2) son más costosos que los sintéticos ya que su producción y transformación es más compleja y sus rendimientos suelen ser bajos. Son menos estables en condiciones de temperatura, acidez y luz por lo que el color puede cambiar en el alimento o disminuir su intensidad durante su periodo de almacenamiento (Ulloa, 2017).

 Tabla 2.
 Colorantes naturales permitidos

Código	Nombre	
E-100	Curcumina	
E-101	Riboflavina, Riboflavina-5-fosfato sódico	
E-120	Carmín cochinilla	
E-140	Clorofilas y Clorofilinas	
E-141	Complejos cuproclorofínicos	
E-150 a	Caramelo natural	
E-150 b	Caramelo de sulfito cáustico	
E-150 c	Caramelo amónico	
E-150 d	Caramelo de sulfito amónico	
E-160 a	Carotenos	
E-160 b	Annato	
E-160 c	Capsantina y Capsorrubina	
E-160 d	Licopeno	
E-160 e	Beta-apo-8'-carotenal (C30)	
E-160 f	Ester etílico del ácido Beta-apo-8'-	
	carotenal (C30)	
E-161 b	Luteína	
E-161 g	Cantaxantina	
E-162	Betalaína	
E-163	Antocianinas	

Elaborado por: Silva, J. Adaptado de: (Hernandez, 2010, Astiasaran & Anchía, 2003).

#### 1.1.2. Rábano

El rábano es una hortaliza de crecimiento anual o bianual, esto quiere decir que se puede cultivar en cualquier época del año con un periodo de cultivo de 20 días además el rábano

se puede adaptar a cualquier tipo de suelo. Esta hortaliza puede sufrir daños por plagas como las orugas de col, pulgones o rosquilla negra (**Tuitice**, **2021**).

En la Tabla 3 se detalla el valor nutricional del rábano, destacándose como un alimento saludable.

Tabla 3. Valor nutricional del rábano

Valor nutricional en 100 g de material vegetal fresco		
Energía	17 kcal	
Proteínas	1 g	
Agua	95.3 g	
Vitamina B1	0.040 mg	
Vitamina B2	0.020 mg	
Vitamina B6	0.010 mg	
Vitamina C	0.037 mg	
Calcio	34 mg	
Fosforo	31 mg	
Hierro	1.3 mg	
Magnesio	11 mg	
Yodo	16 mg	

Elaborado por: Silva, J. Adaptado de: (Agri, 2020).

#### 1.1.2.1. Taxonomía del Rábano

Se cree que el rábano se consumía desde la antigüedad principalmente en Grecia y Roma volviéndose un alimento fundamental para la época. El término latino del rábano proviene de -raphanos- que significa "que sube fácilmente" debido al fácil y corto crecimiento de la hortaliza después de su plantación (**Dávila & Arauz, 2012**).

Tabla 4. Información taxonómica del rábano.

Descripción	Denominación	
Reino	Plantae	
Orden	Brassicales	
Familia	Brassicaceae	
Género	Raphanus	
Especie	R. sativus	
Nombre Científico	Raphanus sativus L.	

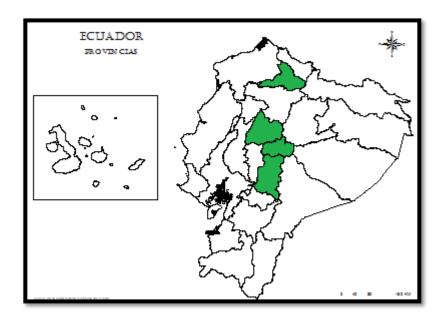
Elaborado por: Silva, J. Adaptado de: (Toapanta, 2013).

China y Japón lo han consumido desde la antigüedad, siendo China uno de los mayores productores de rábano (**Fernández**, **2013**). Los principales países productores y exportadores de esta hortaliza son Países Bajos, China, Italia, España, México, Estado Unidos, Israel, Alemania y Polonia (**Khayat & Khayat**, **2016**).

#### 1.1.2.2.Producción de rábano en el Ecuador

En Ecuador la producción de rábano no es muy significativa a pesar de ser sencillo para cultivarlo y cosecharlo. El Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca (MAGAP) no impulsa el cultivo del mismo por lo que no existen datos del área y toneladas de producción a pesar de la gran demanda en los países europeos y asiáticos (Coello, 2022, MAGAP, 2022).

Las provincias donde se lo cultiva y cosecha en mayor cantidad son Imbabura, Tungurahua, Cotopaxi y Chimborazo (Figura 1) (Coello, 2022).



**Figura 1.** Provincias del Ecuador donde se cultiva rábano **Fuente:** (*Geoinformación – Geoportal Ecuador*, 2022).

#### 1.1.2.3.Colorante del rábano

El rábano tiene la capacidad de brindar diferentes tipos de colores (naranja, rojo, violeta, azul) gracias a la presencia de antocianinas, las cuales tienen una estructura química de tipo flavonoide que se pueden encontrar en la mayoría de los vegetales, frutos y plantas. Una de las antocianinas más comunes es la pelargonidina-3-O-glucósido (Figura 2) que es la responsable de los colores rojo y morado. Las antocianinas son más estables en medios ácidos, por ello el uso de ácido clorhídrico durante el proceso de extracción es recomendado(Matus-Castillo et al., 2022, Zhang et al., 2020).

**Figura 2.** Estructura química de la pelargodinia-3-O-glucósido **Fuente:** (Matus-Castillo et al., 2022).

#### 1.1.3. Técnica de cuantificación por espectrofotometría

Las técnicas espectrofotométricas permiten cuantificar la concentración de una sustancia en solución, basada en la cantidad de luz absorbida al ser irradiada por una fuente luminosa (Álvarez, 2022). Esta técnica es ampliamente usada para la cuantificación de proteínas, hidrocarburos totales, polifenoles, etc. Además, puede ser empleada para analizar la calidad de un producto o para el estudio de la cinética de degradación de un compuesto, como por ejemplo los colorantes (Arguijo-Portillo et al., 2019) (Suárez et al., 2009). En la Tabla 5 se observan la longitud de onda de máxima absorbancia para algunas antocianinas.

**Tabla 5.** Longitud de onda de máxima absorbancia de diferentes antocianinas

Antocianina	Espectro máximo visible	Tendencia de color
	(nm)	
Cianidina	506	Naranja rojo
Pelargonidina	494	Naranja
Delfinida	508	Azul – rojo

Peonidina	506	Naranja – rojo
Malvidina	510	Azul – rojo
Petunidina	508	Azul – rojo

Elaborado por: Silva, J. Adaptado de: (Garzón, 2008).

#### 1.2. Objetivos

#### 1.2.1. Objetivo General

 Analizar la estabilidad del colorante extraído del rábano (Raphanus sativus) en una bebida no carbonatada base.

#### 1.2.2. Objetivos Específicos

- Emplear dos métodos de extracción (agitación y ultrasonido) para la obtención del colorante natural.
- Identificar el mejor método de extracción en base a la concentración de antocianinas.
- Analizar la estabilidad del colorante natural obtenido en una bebida no carbonatada bajo diferentes condiciones de temperatura y luz.

#### 1.3. Hipótesis

#### 1.3.1. Hipótesis nula

H0: Las condiciones de almacenamiento (temperatura y exposición a la luz) no influyen en la estabilidad del colorante extraído a partir del rábano.

## 1.3.2. Hipótesis alternativa

H1: Las condiciones de almacenamiento (temperatura y exposición a la luz) si influyen en la estabilidad del colorante extraído a partir del rábano.

#### CAPÍTULO II

#### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### 2.1. Materiales

- Rábano
- Etanol
- Ácido clorhídrico
- Agua destilada
- Saborizante
- Ácido cítrico
- Sorbato de potasio
- Azúcar

#### 2.2. Métodos

#### 2.2.1. Obtención del rábano en polvo

Se realizó según el método sugerido por **Cueva** (**2014**). El rábano (*Raphanus sativus*) se compró en los mercados locales de la ciudad de Ambato. Se seleccionaron aquellos sin golpes ni magulladuras y se los lavó con agua potable. Se desecharon los troncos y residuos presentes. Se peló la corteza con una peladora y se colocó en un envase previamente lavado. La corteza se secó en una estufa a 55°C durante 24 horas y se trituró para reducir el tamaño de partícula. Se pesó el material vegetal seco y se lo almacenó en un recipiente hermético de vidrio.

#### 2.2.2. Extracción de colorante del rábano por el método de agitación

Para la extracción se aplicó el método de **Jurado et al.** (2020). Se colocó en un vaso de precipitación 1 mg del material vegetal con 10 mL (relación material vegetal/disolvente, 1/10) de una solución etanol: agua (relación 60:40) acidificada al 1% con HCl 0.2N. Se dejó en agitación constante (300 rpm) por el lapso de 40 minutos, a una temperatura de 30°C. Tras la primera extracción quedaron residuos coloreados por lo que se realizó una segunda extracción para su optimización. El colorante fue filtrado para eliminar la materia vegetal remanente.

#### 2.2.3. Extracción del colorante del rábano por el método de ultrasonido

Para la extracción por ultrasonido se empleó la metodología de **Ordóñez-Santos et al.** (2019). Se utilizó el equipo de baño ultrasónico marca Branson modelo 889543 donde se colocó un matraz Erlenmeyer con 1 mg de la muestra vegetal y 10 mL de solvente (etanol: agua, relación 60:40) acidificado al 1% con ácido clorhídrico 0.2N. Se trabajó a la máxima potencia que presenta el equipo y se mantuvo las condiciones durante 20 minutos a una temperatura de 30°C. El colorante fue filtrado para eliminar la materia vegetal remanente.

# 2.2.4. Identificación del mejor método de extracción y secado de los colorantes extraídos

La identificación del mejor método de extracción se realizó por espectrofotometría según la metodología de **Siliezar (2015)**, en un equipo Fisher Scientific de modelo accuSkan Go. Se trabajó en un rango de longitud de onda entre 400 – 700 nm y se tomó en cuenta la máxima absorbancia del colorante.

Para el proceso de secado del colorante extraído, primero se evaporó el disolvente

orgánico y posteriormente se congeló el extracto acuoso a -20 °C para finalmente ser

liofilizado.

El colorante en polvo se almacenó en un recipiente hermético y oscuro.

2.2.4.1. Cálculo de concentración de antocianinas

La concentración de antocianinas se determinó mediante la fórmula (Ecuación 1) sugerida

por Martínez-Cruz et al. (2011), se trabajó con el extracto líquido y filtrado de los dos

métodos ensayados (agitación y ultrasonido) y con la máxima absorbancia obtenida.

 $C = \frac{A * PM * FD * 1000}{\varepsilon (1)}$ 

Ecuación 1. Concentración de antocianinas

Donde:

C: Es la concentración de antocianinas en mg/L.

PM: El peso molecular de la cianidina 3-glucósido (449.6 g/L)

FD: Factor de dilución

A: Absorbancia de la muestra

ε: Coeficiente de extinción molar de la cianidina 3-glucósido (26900 L cm-1 mg-1)

16

#### 2.2.5. Preparación de una bebida no carbonatada

Para el estudio de la estabilidad del colorante extraído fue necesario elaborar una bebida no carbonatada base según lo propuesto por **Jiménez**, (2022) y cumpliendo lo detallado en la norma **NTE INEN 2304** (2017) con relación al pH y los sólidos solubles. Para lo cual se siguió el siguiente procedimiento.

Se calentó 7000 mL de agua a 80 °C durante 30 minutos. Se preparó el jarabe (azúcar, ácido cítrico, saborizante) usando el agua previamente hervida y según la formulación base detallada en la Tabla 6. Se enfrió hasta 20 °C y posteriormente se añadió el colorante extraído, para finalizar se agregó el conservante según la metodología de **Marcano** (2018). La mezcla se vertió en una botella de plástico transparente de 300 ml previamente esterilizada y se culminó con su respectivo sellado (**Lobo, 2019**).

**Tabla 6.** Formulación base para un litro de bebida no carbonatada

Ingredientes	Formulación (%)	
Agua	88.54	
Ácido Cítrico	0.10	
Azúcar	11.00	
Saborizante	0.34	
Colorante	0.005	
Preservante	0.02	
Total	100.00	

Fuente: Tomado de (Jiménez, 2022).

#### 2.2.5.1. Medición de iones de hidrógeno (pH)

La determinación se realizó según la norma **NTE INEN 2304 (2017)**. Para ello, se colocó 30 ml de la bebida no carbonatada con colorante en un vaso de precipitación y se procedió

a introducir los electrodos del equipo en la muestra. Se registró el valor dado por el pHmetro y las mediciones se realizaron por duplicado.

#### 2.2.5.2. Medición de sólidos solubles

La medición se realizó según la norma **NTE INEN 1083:1984, (2013)**, con modificaciones, donde se tomó 50 mL de la bebida en un vaso de precipitación y se colocó 3 gotas con la ayuda de un gotero en el brixómetro digital marca Atago a una temperatura de 20°C.

#### 2.2.6. Diseño factorial

Para el estudio de la estabilidad del colorante en la bebida no carbonatada se empleó un diseño factorial AxB, en donde el factor A corresponde a la temperatura (4°C, 20°C y 38°C) y el factor B al tipo de luz (ambiente y 9W blanco neutro). Se obtuvieron un total de 8 tratamientos para realizar el análisis de valores inter sujetos (**Mejía, 2016**).

#### 2.2.7. Análisis de estabilidad

La bebida no carbonatada se mantuvo bajo tres temperaturas de almacenamiento (4°C, 20°C y 38°C) y expuesta a dos tipos de luz (luz natural y luz de 9W blanco neutro) por un periodo de 15 días (**Ahuanari et al., 2017**).

La estabilidad del colorante se evaluó por espectrofotometría UV-Vis según el método establecido por **Siliezar (2015)**, con modificaciones. Para ello, el contenido de antocianinas se cuantificó mediante la absorbancia máxima en el rango de longitud de onda de 400 – 700 nm, se usó un coeficiente de extinción molar de 26900 y se trabajó con una celda de 1 cm de paso óptico (**Hundskopf, 1998**).

El análisis se lo realizó cada 24 horas durante un periodo total de 15 días. Se trabajó por duplicado y los resultados se establecieron como la media con su respectiva desviación estándar.

#### **CAPITULO III**

#### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Análisis y discusión de resultados

# 3.1.1. Identificación del mejor método de extracción en base a la concentración de antocianinas

De acuerdo con **Flores**, (2017) factores como el tiempo de extracción, la temperatura y la concentración del solvente son los responsables de la concentración total de antocianinas dentro de un proceso de extracción.

#### 3.1.1.1. Extracción por agitación y ultrasonido

Para los dos procesos de extracción se empleó etanol acidificado y la relación material vegetal/disolvente se mantuvo constante con la finalidad de evaluar la influencia de la agitación y el ultrasonido. En la Tabla 7 se reporta la absorbancia máxima de los extractos y la correspondiente concentración de antocianinas totales. Se obtuvo mayor rendimiento (aprox. 14% más) en la extracción por agitación.

**Tabla 7.** Concentración de antocianinas obtenidas por dos métodos de extracción

Método de	Longitud de	Absorbancia	Concentración
extracción	Onda máxima	máxima	de
	(nm)		antocianinas
Agitación	526	0.4218	64.0680
Ultrasonido	527	0.3641	55.3038

Según **Benavides-Guerrero et al., (2020)** el método ultrasónico es más eficiente, por su bajo costo y brinda mayor concentración de compuestos antociánicos en comparación con otros métodos como sólido – líquido o Soxhlet. Para esta extracción se trabajó en condiciones de 30°C por 20 minutos obteniendo una menor concentración que por el método de agitación.

En diferentes investigaciones como la de **Liu et al. (2020)** el método ultrasónico tiene 17.92% más rendimiento que el modelo por agitación representando el 16.34%, dichos resultados se encuentran similares a la investigación de **Becerra et al. (2019)** indicando un 96% de rendimiento en el fruto de mora castilla para su extracción por este método trabajando con etanol al 96% por 90 minutos mencionando que se disminuyó el tiempo de extracción y a una potencia de 112.5 Watts.

Factores como el tiempo afecta en el rendimiento de la extracción de antocianinas, el grado alcohólico debe tener un elevado porcentaje para la extracción, el medio acidificado principalmente para la estabilidad de las antocianinas y la potencia del equipo ultrasónico siendo el factor principal que permite la obtención de mayor rendimiento de estos compuestos. El bajo rendimiento por el método de ultrasonido (Tabla 7) es por la limitación del equipo al no poder regular la potencia de trabajo, teniendo este equipo dos niveles sin detalle de la potencia, además el tiempo de extracción resulta menor a los mencionados por los autores siendo de 20 minutos. En el estudio de **Chong & Gwee**, (2015) la extracción por ultrasonido muestra un 246.48% de mejora y **B. P. Pérez et al.**, (2021) menciona que la temperatura óptima de extracción es de 60°C factor que no cumple con la presente investigación ya que la extracción se realizó a 30°C.

En la investigación de **Rodríguez**, (2021) el método de agitación la máxima concentración de antocianinas fue de 87.5 mg dato que está cercano al que se indica en la Tabla 7 siendo de 64.0680 mg esta reducción es debido al tiempo de extracción y la temperatura, siendo de 60°C por 15 minutos por parte del autor lo que genera más rendimiento de extracción pero con peligro de sufrir daños ya que si se eleva la temperatura la solución tiende a evaporarse, al no cumplir con la temperatura mencionada la cantidad máxima de

antocianinas resulta menor. Esto se puede observar en la gráfica de los dos métodos (Anexo 1).

#### 3.1.2. Estudio de la estabilidad del colorante extraído

Para el estudio de la estabilidad del colorante natural fue necesario la preparación de una bebida no carbonatada base (Tabla 6); este es un producto que simula las condiciones reales para el uso del colorante. La bebida fue almacenada a tres condiciones de temperatura y bajo dos condiciones de luz (**Flores**, **2017**).

Las antocianinas el ser inestables en temperaturas elevadas sufren una ruptura de su enlace glucósido, formando estructuras hidroxiladas lo que resulta en menor estabilidad del colorante, de la misma manera la luz genera una foto degradación de los pigmentos. Procesos como la encapsulación del colorante o el control de la acidez del medio, ayudan a proteger a estos pigmentos frente a factores externos que disminuyen su estabilidad (Rabanal-Atalaya & Medina-Hoyos, 2021). El análisis de la concentración de antocianinas a lo largo del tiempo, en la bebida no carbonatada sometida a diferentes factores de almacenamiento permitió observar el comportamiento del colorante y determinar su estabilidad.

#### 3.1.2.1. Medición de iones de hidrógeno (pH)

Se midió el pH de la bebida durante los 15 días de almacenamiento (Tabla 8). Para la bebida inicial el pH obtenido fue de 3.0632 a 3.0634 para cada tratamiento y en el día 15 fue de 3.0631 a 3.0364 lo cual se encuentra dentro de lo establecido en la norma INEN (NTE INEN 2304, 2017) (Anexo 5) para bebidas no carbonatadas. El pH ácido de la bebida está relacionado con la cantidad de ácido cítrico usado en su preparación; Gonzales, (2023) en su investigación, donde usó ácido cítrico para la elaboración de infusiones carbonatadas obteniendo resultados de pH de 2.80 durante 20 días de almacenamiento sin cambios de pH, esto es debido a que el ácido cítrico es débil pero con

una buena estabilidad química en condiciones normales, este se ve afectado en temperaturas entre 153°C a 200°C situación que no sucede en la presente investigación dando así una estabilidad en la bebida no carbonatada (ISQUISA, 2020).

La desviación estándar de la acidez para cada tratamiento durante los 15 días de almacenamiento con respecto a su media indica que los datos de desviación entre los puntos son mínimos como se observa en la Tabla 8. **Guerra-Rodríguez et al., (2019)** el ácido cítrico no disminuye su pH por temperaturas elevadas o por la luz.

**Tabla 8.** Media y desviación estándar de pH de cada tratamiento durante 15 días de almacenamiento de la bebida no carbonatada

Día	Refrige	Temperatura	Tempe	Refrige	Temperat	Tempe
	ración	Ambiente	ratura	ración	ura	ratura
	(Led)	(Led)	38°		Ambiente	<b>38</b> °
			(Led)			
1	3.0634	3.0634	3.0634	3.0632	3.0632	3.0634
2	3.0633	3.0633	3.0633	3.0631	3.0631	3.0633
3	3.0633	3.0633	3.0633	3.0631	3.0631	3.0633
4	3.0633	3.0633	3.0633	3.0631	3.0631	3.0632
5	3.0633	3.0633	3.0633	3.0630	3.0630	3.0632
6	3.0633	3.0633	3.0633	3.0631	3.0631	3.0632
7	3.0633	3.0633	3.0633	3.0631	3.0631	3.0633
8	3.0633	3.0633	3.0632	3.0630	3.0630	3.0632
9	3.0632	3.0632	3.0631	3.0630	3.0630	3.0631
10	3.0632	3.0631	3.0631	3.0629	3.0629	3.0630
11	3.0633	3.0632	3.0632	3.0632	3.0630	3.0631
12	3.0633	3.0632	3.0632	3.0632	3.0631	3.0632
13	3.0634	3.0633	3.0633	3.0633	3.0631	3.0633
14	3.0633	3.0632	3.0633	3.0632	3.0631	3.0633
15	3.0634	3.0633	3.0634	3.0633	3.0631	3.0634

	Refriger ación (Led)	Tempera tura Ambient	Temper atura 38°	Refrige ración	Tempe ratura Ambie	Tempe ratura 38°
		e (Led)	(Led)		nte	
	3.0633	3.0631	3.0633	3.0631	3.0633	3.0632
Desviació						
n E-44	5.38^-05	1.14^-04	5.74^-05	7.72^-5	8.38^-5	9.46^-5
Estándar						

#### 3.1.2.2. Medición de sólidos solubles

La medición de los sólidos solubles se efectuó con un Brixómetro digital Atago durante los 15 días de observación, se tomó como patrón la bebida sin la adición del colorante. Los grados brix dependen de la cantidad de azúcar que se le añade a la solución y los resultados obtenidos (Tabla 9) indican que el rango de sólidos solubles en la bebida se encuentra entre 10.8 y 10.7 para cada uno de los tratamientos (Anexo 8), valores que cumplen los requisitos de la norma INEN (NTE INEN 2304, 2017).

En la investigación de **Moreno & Betancourt**, (2007) en el desarrollo de jugos de frutas, los grados Brix se mantuvieron estables durante 21 días de almacenamiento con un valor final de 11 °Brix similares a los que se reportan en la presente investigación. Al no tener ningún proceso fermentativo en la bebida, los sólidos solubles se mantuvieron prácticamente constantes en todos los tratamientos.

La desviación estándar de los °Brix para cada tratamiento durante los 15 días de almacenamiento con respecto a su media indica que los datos no tienen una dispersión de

datos pronunciada como se observa en la Tabla 9 lo que indica que los °Brix no son afectados por la temperatura o la luz.

**Tabla 9.** Media y desviación estándar de grados Brix durante 15 días de almacenamiento de la bebida no carbonatada

ración (Led)         Ambiente (Led)         ratura ración (Led)         ura Ambiente (Led)           1         10.8         10.8         10.8         10.8         10.8           2         10.7         10.8         10.8         10.8         10.8         10.8           3         10.7         10.8         10.8         10.7         10.8         10.7         10.8           4         10.7         10.8         10.8         10.7         10.8         10.7         10.8           5         10.7         10.8         10.7         10.7         10.8         10.7         10.7         10.8           7         10.7         10.8         10.7         10.7         10.7         10.7           8         10.7         10.8         10.7         10.7         10.7         10.7           10         10.7         10.8         10.7         10.7         10.7         10.7           10         10.7         10.8         10.7         10.7         10.7         10.7           10         10.7         10.8         10.7         10.7         10.7         10.7           10         10.7         10.7         10.7         10.7	Tempe
1       10.8       10.8       10.8       10.8       10.8         2       10.7       10.8       10.8       10.8       10.8         3       10.7       10.8       10.8       10.7       10.8         4       10.7       10.8       10.8       10.7       10.8         5       10.7       10.8       10.7       10.7       10.8         6       10.7       10.8       10.7       10.7       10.7         8       10.7       10.8       10.7       10.7       10.7         9       10.7       10.8       10.7       10.7       10.7         10       10.7       10.7       10.7       10.7       10.7         11       10.7       10.7       10.7       10.7       10.7         12       10.7       10.7       10.7       10.7       10.7	ratura
1       10.8       10.8       10.8       10.8       10.8         2       10.7       10.8       10.8       10.8       10.8         3       10.7       10.8       10.8       10.7       10.8         4       10.7       10.8       10.8       10.7       10.8         5       10.7       10.8       10.7       10.7       10.8         6       10.7       10.8       10.7       10.7       10.7         8       10.7       10.8       10.7       10.7       10.7         9       10.7       10.8       10.7       10.7       10.7         10       10.7       10.7       10.7       10.7       10.7         11       10.7       10.7       10.7       10.7       10.7         12       10.7       10.7       10.7       10.7       10.7	38°
2       10.7       10.8       10.8       10.8       10.8         3       10.7       10.8       10.8       10.7       10.8         4       10.7       10.8       10.8       10.7       10.8         5       10.7       10.8       10.7       10.7       10.8         6       10.7       10.8       10.7       10.7       10.7         8       10.7       10.8       10.7       10.7       10.7         9       10.7       10.8       10.7       10.7       10.7         10       10.7       10.7       10.7       10.7       10.7         11       10.7       10.7       10.7       10.7       10.7         12       10.7       10.7       10.7       10.7       10.7	
3       10.7       10.8       10.8       10.7       10.8         4       10.7       10.8       10.8       10.7       10.8         5       10.7       10.8       10.7       10.7       10.8         6       10.7       10.8       10.7       10.7       10.7         8       10.7       10.8       10.7       10.7       10.7         9       10.7       10.8       10.7       10.7       10.7         10       10.7       10.7       10.7       10.7       10.7         11       10.7       10.7       10.7       10.7       10.7         12       10.7       10.7       10.7       10.7       10.7	10.8
4       10.7       10.8       10.8       10.7       10.8         5       10.7       10.8       10.7       10.7       10.8         6       10.7       10.8       10.7       10.7       10.7         7       10.7       10.8       10.7       10.7       10.7         8       10.7       10.8       10.7       10.7       10.7         9       10.7       10.8       10.7       10.7       10.7         10       10.7       10.7       10.7       10.7       10.7         11       10.7       10.7       10.7       10.7       10.7         12       10.7       10.7       10.7       10.7       10.7	10.8
5       10.7       10.8       10.8       10.7       10.8         6       10.7       10.8       10.7       10.7       10.8         7       10.7       10.8       10.7       10.7       10.7         8       10.7       10.8       10.7       10.7       10.7         9       10.7       10.8       10.7       10.7       10.7         10       10.7       10.7       10.7       10.7       10.7         11       10.7       10.7       10.7       10.7       10.7         12       10.7       10.7       10.7       10.7       10.7	10.8
6       10.7       10.8       10.7       10.7       10.8         7       10.7       10.8       10.7       10.7       10.7         8       10.7       10.8       10.7       10.7       10.7         9       10.7       10.8       10.7       10.7       10.7         10       10.7       10.7       10.7       10.7       10.7         11       10.7       10.7       10.7       10.7       10.7         12       10.7       10.7       10.7       10.7       10.7	10.8
7       10.7       10.8       10.7       10.7       10.7         8       10.7       10.8       10.7       10.7       10.7         9       10.7       10.8       10.7       10.7       10.7       10.7       10.7       10.7       10.7         10       10.7       10.7       10.7       10.7       10.7       10.7         12       10.7       10.7       10.7       10.7       10.7       10.7	10.8
8       10.7       10.8       10.7       10.7       10.7         9       10.7       10.8       10.7       10.7       10.7         10       10.7       10.7       10.7       10.7       10.7         11       10.7       10.7       10.7       10.7       10.7         12       10.7       10.7       10.7       10.7       10.7	10.8
9       10.7       10.8       10.7       10.7       10.7         10       10.7       10.7       10.7       10.7       10.7         11       10.7       10.7       10.7       10.7       10.7         12       10.7       10.7       10.7       10.7	10.7
10       10.7       10.7       10.7       10.7         11       10.7       10.7       10.7       10.7         12       10.7       10.7       10.7       10.7	10.7
11       10.7       10.7       10.7       10.7         12       10.7       10.7       10.7       10.7	10.7
<b>12</b> 10.7 10.7 10.7 10.7 10.7	10.7
	10.7
<b>13</b> 10.7 10.7 10.7 10.7	10.7
15 10.7 10.7 10.7	10.7
<b>14</b> 10.7 10.7 10.7 10.7 10.7	10.7
<b>15</b> 10.7 10.7 10.7 10.7 10.7	10.7

	Refrige	Temper	Tempe	Refrige	Tempe	Tempe
	ración	atura	ratura	ración	ratura	ratura
	(Led)	Ambient	<b>38</b> °		Ambie	<b>38</b> °
		e (Led)	(Led)		nte	
Media	10.707	10.760	10.733	10.713	10.740	10.740
Desviación						
Estándar	0.0258	0.0507	0.0488	0.0352	0.0507	0.0507

# 3.1.2.3. Estabilidad del colorante aplicado en la bebida no carbonatada base

Los espectros de UV-Visible de los tratamientos de refrigeración, temperatura ambiente, y temperatura elevada (38°C) con luz led y sin ella (Anexo 5) tomados en la región del espectro comprendida entre 400 a 700 nm, presentaron una banda ancha de absorbancia entre 480 y 540 nm. **Condori et al., (2020)** observó en frutos de *Muehlembeckia volcánica* bandas en la zona del visible comprendidas entre 400 y 550 nm lo que indicaba la presencia de antocianinas, sin embargo, la máxima absorbancia se observó en el rango de 460 - 530 nm lo que concuerda con los resultados (Tabla 10) obtenidos para el colorante de rábano. El máximo de absorbancia se observó a 509 nm, siendo la longitud de onda de mayor repetición en los diferentes tratamientos. Según **Rojano et al. (2012)**, la variación de la temperatura no genera un cambio en la longitud de onda de máxima absorción, lo cual concuerda con lo observado.

**Tabla 10.** Absorbancia máxima del pigmento en los diferentes tratamientos

Tratamiento	Longitud de	Absorb	ancia
	Onda máxima	máxim	a
		Día 1	Día 15
Refrigeración (Led)		0.1701	0.1127

Temperatura Ambiente		0.1636	0.1139
(Led)			
Temperatura 38°C		0.1170	
(Led)	509		
Refrigeración		0.1454	0.1355
Temperatura Ambiente		0.1818	0.1718
Temperatura 38°C		0.1356	0.1408

## 3.1.3. Análisis de la influencia de la temperatura y luz

# 3.1.3.1. Resultados de la influencia de la temperatura en la estabilidad del colorante

La temperatura es un factor que afecta la estabilidad de las antocianinas, así como el tiempo de almacenamiento y la luz de exposición. En investigaciones **Aguilera y Martínez-González et al. (2017)** mencionan que las antocianinas en condiciones de baja temperatura y obscuridad resultan ser más estables, este comportamiento también está influenciado por el pH y la presencia de oxígeno en el medio. La degradación de estos pigmentos en condiciones de refrigeración se atribuye al contenido de oxígeno como causa principal, sin embargo, factores como la luz y el pH también influyen en la disminución de la intensidad de color de los pigmentos. El Anexo 2 muestra los valores de absorbancia obtenidos al día 1 y 15 de almacenamiento para los seis tratamientos estudiados. Se observa que, a temperatura de refrigeración, el tratamiento que fue expuesto a luz led presentó una mayor disminución en los valores de absorbancia en comparación con el tratamiento que solo estuvo expuesto a luz ambiental. El valor de absorbancia pasó de

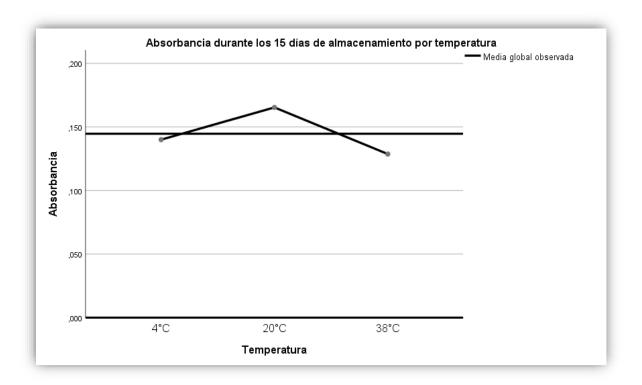
0.1707 a 0.1127, indicando una pérdida de aproximadamente el 34% del contenido de antocianinas en la bebida. El tratamiento de refrigeración sin la influencia de la luz se mantuvo mucho más estable y presentó aproximadamente una disminución del 7% en el contenido de antocianinas.

Flores- Aguilar & Flores-Rivera (2018) y Zapata et al, (2016) mencionan que a temperatura ambiente la concentración de los compuestos antociánicos decrece principalmente por la influencia de la luz y el tiempo de almacenamiento. Los autores mencionan que a temperatura de 22°C pueden almacenarse por meses sin un decrecimiento significativo de la pigmentación, lo que concuerda con los resultados (Tabla 10) del tratamiento mantenido a temperatura ambiente sin influencia de la luz led en el cual la absorbancia se mantuvo bastante estable (0.1818 – 0.1718) en comparación a al tratamiento con la luz led, en el cual la intensidad del color tuvo una reducción significativa (0.1639 – 0.1139) relacionada con la fotosensibilidad de las antocianinas.

Autores como Rabino & Mancinelli (1986) y (Mori et al. (2007) indican que a una temperatura de 35°C y por un tiempo de almacenamiento de 2 meses, la reducción de antocianinas es total. Las antocianinas como cianidina, ponidina, malvidina y pelargonidina decrecen por la elevada temperatura. Marquez et al. (2014) menciona que las altas temperaturas pueden generar una ruptura en la estructura de las antocianinas lo que permite el ingreso de oxígeno y de esta forma comenzaría la degradación del pigmento; la luz y el pH también juegan un papel importante en el proceso degradativo de estos pigmentos (Sui et al., 2014). Los resultados (Tabla 10) concuerdan con lo mencionado por los autores, que en el caso del tratamiento a 38°C junto con luz led la absorbancia fue de 0.1107 al día 1 y sin lectura en el día 15 indicando la degradación de las antocianinas hasta un valor por debajo del límite de detección del equipo; mientras que sin luz led se observó un incremento de 0.1356 a 0.1408, situación que no correspondería a un aumento del contenido de antocianinas sino pudiese estar relacionado con un posible crecimiento microbiano en la bebida (Liu et al., 2018).

La Figura 3 indica una influencia importante de la temperatura en la estabilidad del colorante, mostrando que los pigmentos extraídos del rábano se vieron más afectados en

las bebidas almacenadas a 38°C y fueron más estables en las bebidas almacenadas a 20°C. Esto concuerda con investigaciones similares, como la de Martínez-González et al. (2017); Flores- Aguilar & Flores-Rivera (2018) y Zapata et al, (2016) donde se señala que los colorantes sufren degradación de pigmentación a altas temperaturas, manteniéndose mucho más estables a bajas temperaturas y con una buena estabilidad de color a temperatura ambiente, aunque dependerá de cómo éste sea almacenado.



**Figura 3.** Estabilidad del colorante a 4, 20 y 38°C

# 3.1.3.2. Resultados de la influencia de la luz en la estabilidad del colorante

La luz led influye significativamente en la degradación del colorante (Figura 4). El análisis reveló que la luz artificial led genera la inestabilidad del color en el periodo de 15 días de

almacenamiento mientras que con el tratamiento sin led las antocianinas fueron más estables superando la media global de absorbancia observada.

Estos resultados concuerdan con investigaciones similares **Zhou & Singh (2004) y Rabino & Mancinelli (1986)** indicando que la luz natural (o sin luz artificial) mantiene la estabilidad de las antocianinas, en específico de la cianidina 3 glucósido. Mientras que con la influencia de la luz artificial las antocianinas se degradan, tomando en cuenta que con luz opaca o luz roja esto no se cumple, esto se debe a que la luz puede generar un daño celular lo que genera esta degradación del color (**Ma et al., 2021**).

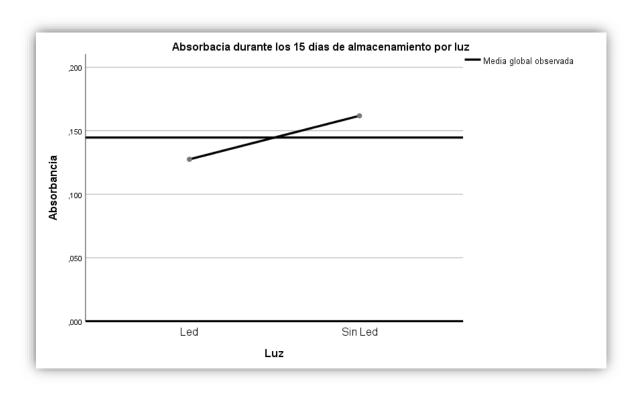


Figura 4. Estabilidad del colorante con influencia de la luz y sin luz

# 3.2.3. Verificación de hipótesis

Los resultados mostraron la influencia de la temperatura y la luz en la estabilidad del colorante extraído del rábano. Por medio del análisis estadístico realizado, se estableció que mediante la prueba de valores inter-sujetos (Anexo 5), la temperatura, la luz y los dos

juntos no favorecen a la estabilidad del colorante. Por lo que se concluye aceptar la hipótesis alternativa (H1) y se establece que la temperatura de 38°y 20°C tiene efectos negativos en las antocianinas, la luz led genera inestabilidad en el colorante y que juntos tanto la temperatura como la luz afectan negativamente a la estabilidad del colorante extraído del rábano.

## **CAPÍTULO IV**

#### **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

#### 4.1. Conclusiones

- Se empleó dos métodos de extracción uno por agitación por la facilidad de manejo de temperatura y tiempo para la obtención del colorante y por ultrasonido por su eficiencia y rendimiento, pero con más factores que influyen en la extracción del colorante tales como la temperatura, el tiempo y la potencia del equipo.
- Se identificó el mejor método de extracción tomando en cuenta la máxima absorbancia de las antocianinas y su concentración en los extractos. El colorante obtenido a partir del método de agitación presentó una mayor concentración (64.0680 mg/L de antocianinas) de pigmentos en comparación al colorante obtenido a través del método de ultrasonido (55.3038 mg/L) por lo que fue seleccionado como el mejor tratamiento.
- La temperatura y luz led son factores que pueden afectar negativamente a la estabilidad de los pigmentos naturales. Se analizó la absorbancia máxima de la bebida no carbonatada con el colorante extraído del rábano bajo diferentes condiciones de temperatura (4, 20, 38°C) y luz (sin led y led). Se pudo observar una disminución en la intensidad del color de la bebida y fue corroborado con una reducción del valor de absorbancia medido mediante espectrofotometría;

indicando que los factores estudiados (temperatura y luz) afectaron significativamente a la estabilidad del colorante en un tiempo prolongado de almacenamiento.

## 4.2. Recomendaciones

- Para la preparación de la bebida tener precaución con cualquier tipo de contaminación cruzada.
- Probar el uso del colorante extraído en la elaboración de otros productos alimenticios.
- Realizar pruebas de análisis sensorial para recopilar información si la adición del colorante genera cambios de sabor en el producto final.

#### C. MATERIALES DE REFERENCIA

### Bibliografía

- Agri, N. (2020). *Agricultura. El cultivo del rábano*. https://www.infoagro.com/hortalizas/rabano.htm
- Aguilera-Ortíz, M., Alanis-Guzmán, M. G., García-Díaz, C. L., & Hernández-Brenes, C. M. (2009). Caracterización y estabilidad de antocianinas de higo, variedad Mission. *Universidad y ciencia*, 25(2), 151–158.
- Ahuanari, I., Alexander, E., Penadillos, M. R., & Antonio, R. (2017). "Estudio de estabilidad de antocianinas en el extracto optimizado de Vaccinium corymbosum L. (Arándano)". 37.
- Alberto, C. J. C. (2022). PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS, ORGANOLÉPTICAS Y BROMATOLÓGICAS DE UNA MERMELADA DE PEPINO DULCE (Solanum muricatum) UTILIZANDO PECTINA DE LA CÁSCARA DE NARANJA (Citrus sinensis) COMO GELIFICANTE TRABAJO EXPERIMENTAL. 90.
- Álvarez, P. (2022). *Cuantificación espectrofotométrica de proteínas*. https://www.academia.edu/42973602/Cuantificaci%C3%B3n\_espectrofotom%C3%A9trica\_de\_prote%C3%ADnas
- Arguijo-Portillo, N. V., Guerrero-Peña, A., Domínguez-Rodríguez, V. I., Carrillo-Ávila, E., Zavala-Cruz, J., Arguijo-Portillo, N. V., Guerrero-Peña, A., Domínguez-Rodríguez, V. I., Carrillo-Ávila, E., & Zavala-Cruz, J. (2019). MODELOS DE CALIBRACIÓN PARA LA CUANTIFICACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA DE HIDROCARBUROS TOTALES DEL PETRÓLEO EN SUELO. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 35(2), 469–479. https://doi.org/10.20937/rica.2019.35.02.17
- Astiasaran, A. I., & Anchía, I. A. (2003). *Alimentos y nutrición en la práctica sanitaria*. Ediciones Díaz de Santos.
- Bautista, M., & Mora, P. (2019). Identificación de saborizantes empleados en productos dirigidos a la población infantil. *Infometric* @ *Serie Ingeniería*, *Básicas y Agrícolas*, 2(2), Art. 2.

- Becerra, N., Muñoz, A., & Lucero, A. (2019). OBTENCIÓN DE UN EXTRACTO ANTOCIÁNICO A PARTIR DEL RESIDUO DE MORA DE CASTILLA (RUBUS GLAUCUS BENTH). Fundación Universidad de América, 12, 14.
- Benavides-Guerrero, R., Revelo-Cuarán, Y. A., Arango-Bedoya, O., Osorio-Mora, O., Benavides-Guerrero, R., Revelo-Cuarán, Y. A., Arango-Bedoya, O., & Osorio-Mora, O. (2020). Extracción asistida con ultrasonido de compuestos fenólicos de dos variedades de papas (Solanum phureja) nativas andinas y evaluación de su actividad antioxidante. *Información tecnológica*, 31(5), 43–50. https://doi.org/10.4067/S0718-07642020000500043
- Blucher, H., Ernst, A., & Neumann, L. (2020). *Enciclopedia Quimica Industrial*. Walter de Gruyter GmbH & Co KG.
- Bolaños, N., Lutz, G., & Herrera, C. (2003). *Química de Alimentos: Manual de laboratorio*. Editorial Universidad de Costa Rica.
- Calvo, M. (2020). *COLORANTES ARTIFICIALES*. http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/aditivos/colorartif.html
- Chong, F. C., & Gwee, X. F. (2015). Ultrasonic extraction of anthocyanin from Clitoria ternatea flowers using response surface methodology. *Natural Product Research*, 29(15), 1485–1487. https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1027892
- Codex Alimentarius. (2021). NORMA GENERAL PARA LOS ADITIVOS ALIMENTARIOS CODEX STAN 192-1995 Adoptado en 1995. Revisión 1997, 1999, 2001, 2003, 2004, 2005, 2006, 2007, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019, 2021. https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fc odex%252FStandards%252FCXS%2B192-1995%252FCXS\_192s.pdf
- Coello, B. (2022). *Identificar las principales enfermedades del cultivo de rábano (Raphanus sativus)*. 21.

- Condori, M. B., Aro Aro, J. M., Muñoz Cáceres, A. E., Rodríguez Mendoza, J., Condori, M. B., Aro Aro, J. M., Muñoz Cáceres, A. E., & Rodríguez Mendoza, J. (2020). Determinación de antocianinas y capacidad antioxidante en extractos de (Muehlembeckia volcanica). 

  \*Revista de Investigaciones Altoandinas, 22(2), 161–169. 
  https://doi.org/10.18271/ria.2020.604
- Cueva, N. E. S. (2014). Estudio de colorantes fotosensibles obtenidos de tres plantas de la región sur del Ecuador para ser aplicadas en celdas solares mediante espectofotometría UV-Visible. 65.
- Dávila, R. E. T., & Arauz, K. A. P. (2012). Evaluación del crecimiento y rendimiento del cultivo de Rábano (Raphanus sativus, L) en diferentes fases lunares en la unidad de producción Las Mercedes, UNA, Managua 2010. 33.
- Fernández, C. D. V. (2013). COMPORTAMIENTO AGRONÓMICO DE TRES VARIEDADES DE RÁBANO (Rhapanus Sativus), CON DIFERENTES DENSIDADES DE SIEMBRA APLICANDO ABONO ORGÁNICO LÍQUIDO. 74.
- Flores- Aguilar, E., & Flores-Rivera, E. del P. (2018). Estabilidad de Antocianinas, Fenoles totales y Capacidad Antioxidante de Bebidas de Maíz Morado (Zea mays L.) y Uña de Gato (Uncaria tomentosa sp). *Información tecnológica*, 29(2), 175–184. https://doi.org/10.4067/S0718-07642018000200175
- Flores, E. (2017). Extracción de Antioxidantes de las Bayas del Sauco (Sambucus nigra L. subsp. Peruviana) con Ultrasonido, Microondas, Enzimas y Maceración para la obtención de Zumos Funcionales. *Información tecnológica*, 28(1), 121–132. https://doi.org/10.4067/S0718-07642017000100012
- Geoinformación Geoportal Ecuador. (2022). https://www.geoportaligm.gob.ec/portal/index.php/descargas/geoinformacion/
- Gonzales, R. (2023). ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA CARBONATADA A BASE DE INFUSIÓN DE HIERBAS ANDINAS "HORCHATA" ENDULZADA CON LA FRUTA MILAGROSA (Synsepalum dulcificum). 2023, 99.

- Guerra-Rodríguez, L. E., Zuorro, A., & Rosselló-Mata, C. (2019). LIBERACIÓN DE XILOSA Y HEMICELULOSAS EN PRETRATAMIENTOS AL BAGAZO DE CAÑA CON EMPLEO DE ÁCIDO CÍTRICO. 46(2).
- Hernandez, A. G. (DRT). (2010). Tratado de nutricion / Nutrition Treatise: Composicion Y Calidad Nutritiva De Los Alimentos / Composition and Nutritional Quality of Foods. Ed. Médica Panamericana.
- Hundskopf, G. (1998). Structure and conformation of red radish (Raphanus sativus L.) anthocyanins and their effect on color and pigment stability. 188.
- ISQUISA. (2020). HOJA DE DATOS DE SEGURIDAD (Ácido Cítrico).
- Jiménez, A. (2022). Optimización de recursos de una planta embotelladora de agua purificada mediante el aprovechamiento de su línea de producción para la elaboración de bebidas no carbonatadas saborizadas. 2022, 69.
- Jurado, I., Cifuentes, D., & Hurtado, N. (2020). Evaluación de métodos de extracción de las antocianinas del fruto de Eugenia malaccensis y su caracterización por HPLC-ESI-MS.
   Vdocument.In. https://vdocument.in/evaluacin-de-mtodos-de-extraccin-de-las-antocianinas-contenido-de-7971.html
- Khayat, D. D., & Khayat, C. (2016). *La cocina anticáncer: Los mejores alimentos para prevenir*. Penguin Random House Grupo Editorial España.
- Kraser, R. B., & Hernández, S. A. (2019). Colorantes alimentarios y su relación con la salud: ¿cómo abordar esta problemática desde el estudio de las disoluciones? *Revista Eureka sobre enseñanza y divulgación de las ciencias.*, 17(1), 1–15. https://doi.org/10.25267/Rev\_Eureka\_ensen\_divulg\_cienc.2020.v17.i1.1202
- Liu, Y., Tikunov, Y., Schouten, R. E., Marcelis, L. F. M., Visser, R. G. F., & Bovy, A. (2018).

  Anthocyanin Biosynthesis and Degradation Mechanisms in Solanaceous Vegetables: A
  Review. Frontiers in Chemistry, 6.

  https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fchem.2018.00052

- Liu, Z., Tang, X., Liu, C., Dong, B., Shao, Y., Liu, B., & Yue, H. (2020). Ultrasonic extraction of anthocyanins from Lycium ruthenicum Murr. And its antioxidant activity. *Food Science & Nutrition*, 8(6), 2642–2651. https://doi.org/10.1002/fsn3.1542
- Llerena, M. J. V. (1995). Nuevos métodos fotométricos y electroquímicos de determinación de colorantes amarillos en alimentos [Microforma]. Univ de Castilla La Mancha.
- Lobo, J. R. S. (2019). Elaboración de una bebida saborizada con base en agua y sabores artificiales de frutas. 2019, 38.
- López, L. (2018). Identificación y cuantificación de los colorantes artificiales: Amarillo crepúsculo (15,985) y Tartrazina (Amarillo N0.5 19,140) en refrescos sabor naranja envase tetra brick de tres marcas comercializadas en supermercados de la Ciudad de Guatemala. 2018.
- Ma, Y., Ma, X., Gao, X., Wu, W., & Zhou, B. (2021). Light Induced Regulation Pathway of Anthocyanin Biosynthesis in Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(20), 11116. https://doi.org/10.3390/ijms222011116
- MAGAP. (2022). Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca.
- Marcano, D. (2018). Introducción a la Química de los Colorantes. 254.
- Marquez, A., Perez-Serratosa, M., Varo, M. A., & Merida, J. (2014). Effect of temperature on the anthocyanin extraction and color evolution during controlled dehydration of Tempranillo grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(31), 7897–7902. https://doi.org/10.1021/jf502235b
- Martínez, Y., López, del R., Hernández, N., & Hernández, A. (2018). *Tuna y Xoconostle: Fuentes de pectinas de interés alimentario*. https://repository.uaeh.edu.mx/revistas/index.php/icap/article/download/2963/2984?inline=1
- Martínez-Cruz, N. del S., Arévalo-Niño, K., Verde-Star, M. J., Rivas-Morales, C., Oranday-Cárdenas, A., Núñez-González, M. A., & Morales-Rubio, M. E. (2011). Antocianinas y

- actividad anti radicales libres de Rubus adenotrichus Schltdl (zarzamora). *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 42(4), 66–71.
- Martínez-González, M. E., Balois-Morales, R., Alia-Tejacal, I., Cortes-Cruz, M. A., Palomino-Hermosillo, Y. A., López-Gúzman, G. G., Martínez-González, M. E., Balois-Morales, R., Alia-Tejacal, I., Cortes-Cruz, M. A., Palomino-Hermosillo, Y. A., & López-Gúzman, G. G. (2017). Poscosecha de frutos: Maduración y cambios bioquímicos. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 8(SPE19), 4075–4087. https://doi.org/10.29312/remexca.v0i19.674
- Matus-Castillo, D. M., Moya-Hernández, J. C., Castillo-Guevara, C., Cervantes-Rodriguez, M., Arguelles-Martinez, L., Paredes, O. A. A.-, & Méndez-Iturbide, D. (2022). Extraction and Use of Anthocyanins from Radish (Raphanus Sativus L Var Crimson Gigant) as a Natural Colorant in Yogurt. *European Journal of Agriculture and Food Sciences*, 4(6), Art. 6. https://doi.org/10.24018/ejfood.2022.4.6.574
- Mejía, D. (2016). EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ANTOCIANINAS EN FRAMBUESA (Rubus idaeus L.) A DIFERENTES TEMPERATURAS Y TIEMPOS DE EXTRACCIÓN. 58.
- Milagro, H., Sánchez, I., & Braco, J. (2019). EFECTO DE LA TEMPERATURA DE ALMACENAMIENTO Y EL TIPO DE ACIDULANTE EN LA CONSERVACIÓN DE UNA BEBIDA COMERCIAL A BASE DEL EXTRACTO ACUOSO DE MAÍZ MORADO (Zea mays L.) Y PLANTAS MEDICINALES. 192.
- Moreno, M., & Betancourt, M. (2007). Evaluación de la estabilidad de bebidas cítricas acondicionadas con dos fuentes naturales de betalaínas: Tuna y remolacha. *Bioagro*, 19(3), 149–159.
- Mori, K., Goto-Yamamoto, N., Kitayama, M., & Hashizume, K. (2007). Loss of anthocyanins in red-wine grape under high temperature. *Journal of Experimental Botany*, *58*(8), 1935–1945. https://doi.org/10.1093/jxb/erm055
- Nations, F. and A. O. of the U. (2018). *Ecología del cultivo, manejo y usos del nopal*. Food & Agriculture Org.

- NTE INEN. (2011). ROTULADO DE PRODUCTOS ALIMENTICIOS PARA CONSUMO HUMANO. PARTE 1. REQUISITOS. NTE INEN 1334-1:2011: Vol. Tercera revisión.
- NTE INEN. (2012). ADITIVOS ALIMENTARIOS PERMITIDOS PARA CONSUMO HUMANO. LISTAS POSITIVAS. REQUISITOS.
- NTE INEN 1083:1984. (2013). BEBIDAS GASEOSAS. DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS SOLUBLES. Instituto Ecuatoriano de Normalización. https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte\_inen\_1083.pdf
- NTE INEN 2304. (2017). NORMA TÉCNICA ECUATORIANA. REFRESCOS O BEBIDAS NO CARBONATADAS. REQUISITOS. NTE INEN 2304. PRIMERA REVISIÓN. Servicio Ecuatoriano de Normalización. https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte\_inen\_2304-1.pdf
- Ordóñez-Santos, L. E., Esparza-Estrada, J., & Osorio Mora, O. (2019). Valorización de subproductos de mora (Rubus glaucus): Extracción asistida por ultrasonido de antocianinas totales. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*. *Universidad Nacional de Cuyo*, 51(2), 367–380.
- Paredes, B. (2002). ANÁLISIS Y OBTENCIÓN DE COLORANTE NATURAL A PARTIR DE LA Baccharis latifolia (Chilca). 2002, 137. http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/3529/1/04%20IT%20007%20TESIS.p df
- Pérez, B. P., Endara, A. B., Garrido, J. A., & Ramírez Cárdenas, L. de los Á. (2021). Extraction of anthocyanins from Mortiño (Vaccinium floribundum) and determination of their antioxidant capacity. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 74(1). https://doi.org/10.15446/rfnam.v74n1.89089
- Posada, D., Valencia, J., & Molina, D. (2012). SELECCIÓN Y EVALUACIÓN DE UN ESTABILIZANTE INTEGRADO DE GOMAS SOBRE LAS PROPIEDADES DE CALIDAD EN MEZCLAS PARA HELADO DURO. 19(2), 12.
- Qiu, Q., de, J., & Gómez, D. P. M. (2020). USO DE COLORANTES ALIMENTARIOS. 22.

- Rabanal-Atalaya, M., & Medina-Hoyos, A. (2021). Análisis de antocianinas en el maíz morado (Zea mays L.) del Perú y sus propiedades antioxidantes. *Terra Latinoamericana*, *39*. https://www.redalyc.org/journal/573/57366066008/
- Rabino, I., & Mancinelli, A. L. (1986). Light, Temperature, and Anthocyanin Production. *Plant Physiology*, 81(3), 922–924. https://doi.org/10.1104/pp.81.3.922
- Rodríguez, M. S. V. (2021). Fuentes naturales de origen vegetal para la obtención de antocianinas. *Universidad Técnica de Ambato*.
- Rojano, B., Zapata, I. I. C., & Bernardo, D. C. F. (2012). Estabilidad de antocianinas y valores de capacidad de absorbancia de radicales oxígeno (ORAC) de extractos acuosos de corozo (Bactris guineensis).
- Salcedo, L. O. G. (2021). Alternativas de aprovechamiento de los residuos en la agroindustria. Universidad Nacional de Colombia.
- Sánchez, J. (2013). LA QUIMICA DEL COLOR EN LOS ALIMENTOS. 14.
- Segovia, D., Velásquez, M., & Vera, E. (2022). OPTIMIZACIÓN DE LA CALIDAD SENSORIAL DE UNA CONSERVA DE CAMARÓN (Litopenaeus vannamei) CON TRES TIPOS DE ACIDULANTES.
- Siliezar, L. C. O. (2015). EVALUACIÓN DE UN EXTRACTO VEGETAL PARA UTILIZARSE COMO INDICADOR ÁCIDO-BASE A PARTIR DEL CONTENIDO DE PIGMENTOS ANTOCIÁNICOS, PRESENTES EN LA CÁSCARA DE RÁBANO ROJO (Raphanus sativus var) A NIVEL LABORATORIO. 2015, 173.
- Stephens-Camacho, N. A., Valdez-Hurtado, S., Lastra-Zavala, G., Félix-Ibarra, L. I., Stephens-Camacho, N. A., Valdez-Hurtado, S., Lastra-Zavala, G., & Félix-Ibarra, L. I. (2018). Consumo de edulcorantes no nutritivos: Efectos a nivel celular y metabólico. *Perspectivas en Nutrición Humana*, 20(2), 185–202. https://doi.org/10.17533/udea.penh.v20n2a06
- Suárez, Y., García Pulpeiro, O., Dao Thanh, T., & Mishig, M. (2009). Diseño y validación de un método espectrofotométrico para el control de calidad del piroxicam jalea 0,5 %. *Revista Cubana de Farmacia*, 43(4), 20–30.

- Sui, X., Dong, X., & Zhou, W. (2014). Combined effect of pH and high temperature on the stability and antioxidant capacity of two anthocyanins in aqueous solution. *Food Chemistry*, 163, 163–170. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.075
- Toapanta, M. (2013). *Planta de Rábano*. https://es.slideshare.net/manueltoapanta16/planta-derabano
- Tovar, E., Ortiz, A., & Hernández, J. (2012). Aditivos Alimentarios. *McGraw-Hill Interamericana*, 2012, 14.
- Tuitice, A. (2021). Antocianinas y su aplicación como colorantes naturales para alimentos. *2021*, 76.
- Ulloa, F. (2017). EL USO DE LOS COLORANTES COMESTIBLES NATURALES Y SINTÉTICOS DESDE EL ASPECTO FUNCIONAL EN LA PASTELERÍA. 77.
- Utset, E. Z. (2020). Evaluación objetiva de la calidad sensorial de alimentos procesados. Editorial Universitaria (Cuba).
- Vázquez, J., Córdoba, I., Vásquez, M., Cruz, G., & Cabreba, E. (2016). *Colorantes artificiales* en alimentos. Synthetic dyes un food stuff. 15.
- Velázquez-Sámano, G., Collado-Chagoya, R., Cruz-Pantoja, R. A., Velasco-Medina, A. A., Rosales-Guevara, J., Velázquez-Sámano, G., Collado-Chagoya, R., Cruz-Pantoja, R. A., Velasco-Medina, A. A., & Rosales-Guevara, J. (2019). Reacciones de hipersensibilidad a aditivos alimentarios. *Revista alergia México*, 66(3), 329–339. https://doi.org/10.29262/ram.v66i3.613
- Villota, V. P., Lucero, M., Segura, J., Coba, R., & Brito, H. (2019). Colorantes naturales para uso alimenticio. *Ciencia Digital*, *3*, 88–98. https://doi.org/10.33262/cienciadigital.v3i2.4.510
- Zapata, L. M., Castagnini, J. M., Quinteros, C. F., Carlier, E., Jimenez-Veuthey, M., Cabrera, C., Zapata, L. M., Castagnini, J. M., Quinteros, C. F., Carlier, E., Jimenez-Veuthey, M., & Cabrera, C. (2016). Estabilidad de Antocianinas Durante el Almacenamiento de Jugos de Arándanos. *Vitae*, 23(3), 173–183. https://doi.org/10.17533/udea.vitae.v23n3a03

- Zhang, J., Qiu, X., Tan, Q., Xiao, Q., & Mei, S. (2020). A Comparative Metabolomics Study of Flavonoids in Radish with Different Skin and Flesh Colors (Raphanus sativus L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c05031
- Zhou, Y., & Singh, B. R. (2004). Effect of Light on Anthocyanin Levels in Submerged, Harvested Cranberry Fruit. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2004(5), 259–263. https://doi.org/10.1155/S1110724304403027

#### **ANEXOS**

# Anexo1. Comparación de concentración de antocianinas

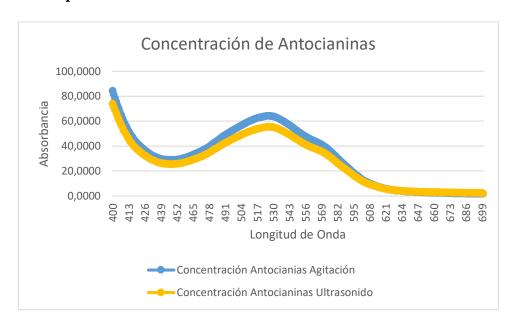


Figura 5. Curva de concentración de antocianinas

Anexo 2. Media y desviación estándar de cada tratamiento durante 15 días de almacenamiento

Día	Longitud	Refrige	Temperat	Temperat	Refriger	Temperat	Tempe
	de onda	ración	ura	ura 38°	ación	ura	ratura
		(Led)	Ambiente	(Led)		Ambiente	38°
			(Led)				

1		0.1701	0.1636	0.1070	0.1454	0.1818	0.1356
2		0.1393	0.1655	0.1036	0.1446	0.1774	0.1679
3		0.1441	0.1721	0.1064	0.1464	0.1971	0.1782
4		0.1397	0.1699	0.1089	0.1450	0.2138	0.1706
5		0.1466	0.1647	0.1026	0.1447	0.2243	0.1643
6		0.1439	0.1461	0.1055	0.1456	0.1737	0.1658
7		0.1436	0.1470	0.1064	0.1469	0.1793	0.1634
8	509	0.1434	0.1448	0.0891	0.1467	0.1773	0.1652
9		0.1407	0.1462	0.0912	0.1454	0.1695	0.1625
10		0.1377	0.1460	0.0893	0.1463	0.1710	0.1652
11		0.1309	0.1511		0.1441	0.1706	0.1593
12		0.1162	0.1455		0.1451	0.1657	0.1594
13		0.1117	0.1306		0.1448	0.1710	0.1500
14		0.1089	0.1408		0.1441	0.1686	0.1502
15		0.1127	0.1139		0.1355	0.1718	0.1408

	Refriger ación (Led)	Tempera tura Ambient	Temper atura 38°	Refrige ración	Tempe ratura Ambie	Tempe ratura 38°
		e (Led)	(Led)		nte	
Media	0.1353	0.1499	0.0673	0.1447	0.1809	0.1599
Desviación						
Estándar	0.0166	0.0156	0.0497	0.0027	0.0173	0.0113

## Anexo 4. Absorbancia del colorante en la bebida por tratamientos

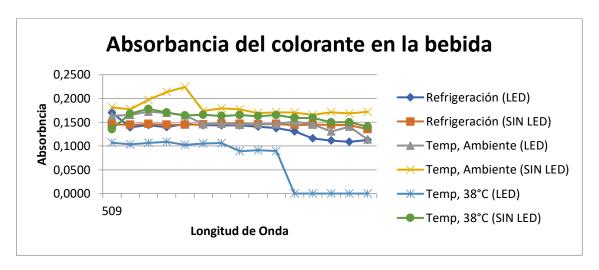


Figura 6. Curva de la media del colorante en los 15 días

## Anexo 5. Estabilidad del colorante desde el día 1 al día 15

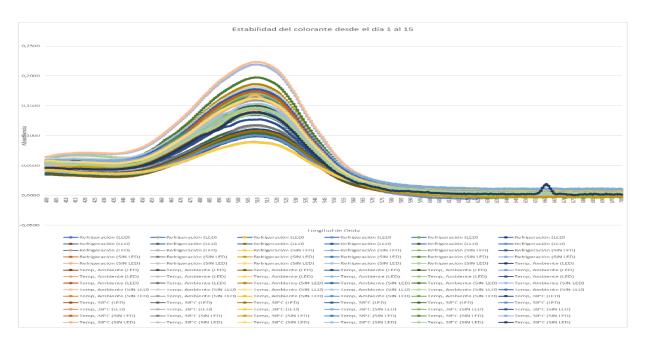


Figura 7. Curva de estabilidad del colorante

## Anexo 6. Estabilidad del colorante del día 1 y del día 15

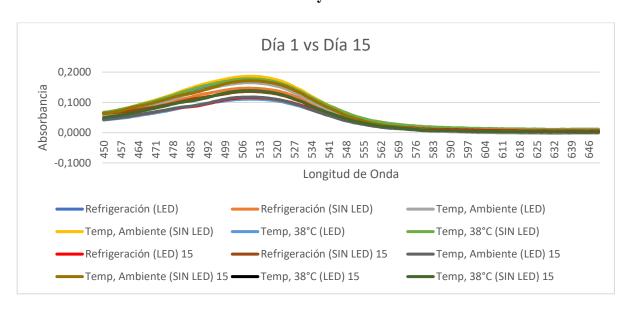


Figura 8. Curva comparativa de la estabilidad del colorante

## Anexo 7. Medición de pH del día 1 al día 15

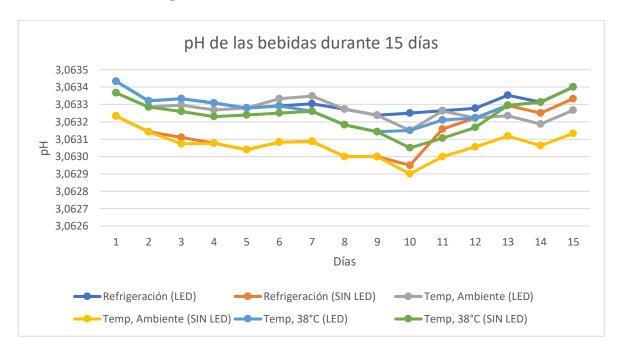


Figura 9. Estabilidad de pH en 15 días

Anexo 8. Medición de grados Brix

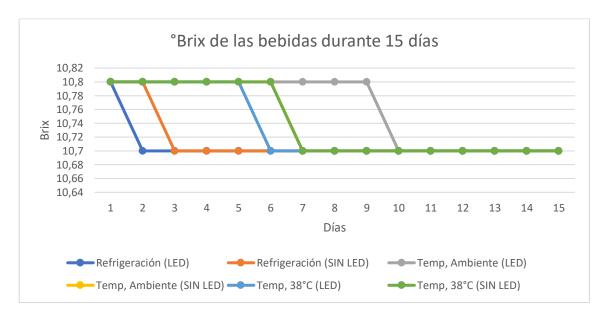


Figura 10. Estabilidad de °Brix

## Anexo 9. Resultado del análisis estadístico en SPSS Statistics

## Pruebas de efectos inter-sujetos

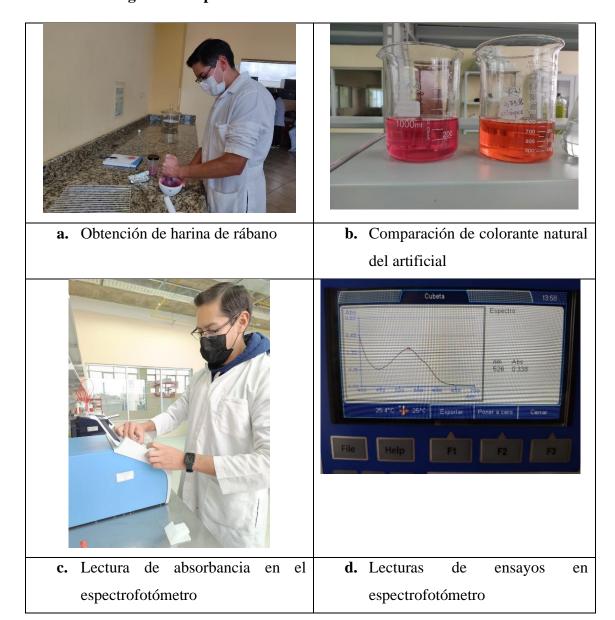
Variable dependiente: Datos

	Tipo III de suma		Media		
Origen	de cuadrados	gl	cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	,058ª	5	,012	10,806	,000
Intersección	1,884	1	1,884	1747,551	,000
Temperatura	,021	2	,011	9,812	,000
Luz	,026	1	,026	24,519	,000
Temperatura * Luz	,011	2	,005	4,942	,009
Error	,091	84	,001		
Total	2,033	90			
Total corregido	,149	89			

a. R al cuadrado = ,391 (R al cuadrado ajustada = ,355)

Figura 11. Diseño factorial de la influencia de estabilidad de cada tratamiento

Anexo 10. Fotografías del proceso de obtención del colorante



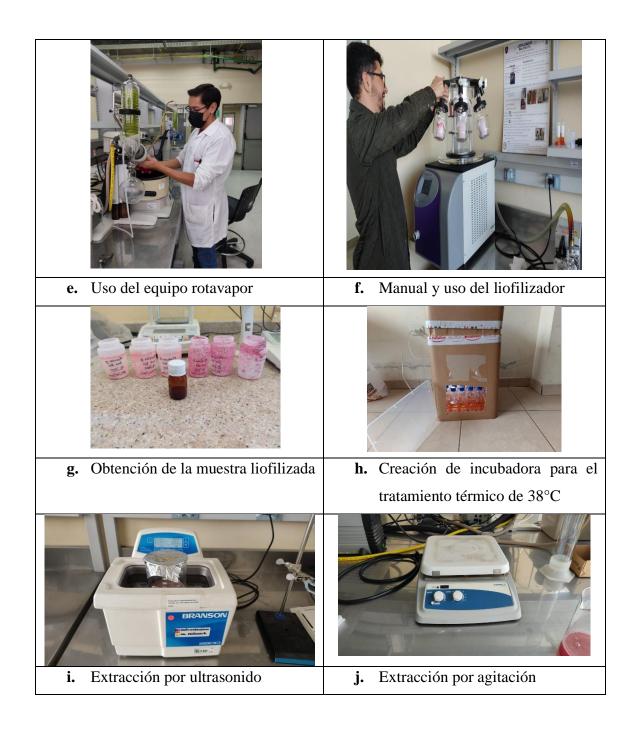


Figura 12. Extracción y aplicación del colorante