

EVALUACIÓN DE LA OBTENCIÓN DE COLORANTE NATURAL A PARTIR DEL  
HOLLEJO DE UVA (*VITIS VINIFERA* 'CABERNET SAUVIGNON') Y LA CÁSCARA DE  
MANDARINA (*CITRUS RETICULATA*) PARA APLICACIÓN EN LA INDUSTRIA  
ALIMENTARIA.

PAOLA ANDREA CASTRO CASTILLA  
SARA CAROLINA MENDOZA REMOLINA

Proyecto integral de grado para optar al título de  
INGENIERO QUÍMICO

DIRECTOR  
JUAN ANDRÉS SANDOVAL HERRERA  
INGENIERO QUÍMICO

FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA  
FACULTAD DE INGENIERÍAS  
PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA  
BOGOTÁ, D.C.

2021

NOTA DE ACEPTACIÓN

---

---

---

---

---

---

---

Nombre  
Firma del Director

---

Nombre  
Firma del Presidente del Jurado

---

Nombre  
Firma del Jurado

---

Nombre  
Firma del Jurado

Bogotá D.C., julio de 2021.

## DIRECTIVOS DE LA UNIVERSIDAD

Presidente de la Universidad y Rector del Claustro  
**Dr. Mario Posada García Peña**

Consejero institucional  
**Dr. Luis Jaime Posada García - Peña**

Vicerrectora Académica y de Investigaciones  
**Dra. Alexandra Mejía Guzmán**

Vicerrector Administrativo y Financiero  
**Dr. Ricardo Alfonso Peñaranda Castro**

Secretario General  
**Dr. José Luis Macías Rodríguez**

Decano de la Facultad  
**Dr. Julio César Fuentes Arismendi**

Director de Programa de Ingeniería Química  
**Dra. Nubia Liliana Becerra Ospina**

## DEDICATORIA

Dedico este trabajo principalmente a Dios, por darme salud y fuerza para culminar con éxito mi formación profesional.

A mi mamá Linda Castilla, por ser la persona más importante en mi vida y mi ejemplo a seguir, por demostrarme su apoyo incondicional, por su amor, esfuerzo y sacrificio brindado a lo largo de estos años; a mi papá Saúl Castro, por haberme dado su apoyo moral y afectivo, por sus palabras de motivación y sabiduría; a ambos por confiar en mí y darme la oportunidad de cumplir mis sueños.

A mi hermana Camila, por estar siempre presente, por ser mi compañía en los buenos y malos momentos que pasamos viviendo juntas en el transcurso de la universidad, por ser cómplice en cada paso que doy.

A mi familia, especialmente a mi segunda madre Carmen Leal por su amor, cariño y paciencia y por los valores inculcados en mi niñez; a mis tías Jasmín y Jenny por su apoyo, confianza y amor, por ayudarme a cumplir una de mis metas.

A mi compañera de tesis y mejor amiga Sara Mendoza, por estar conmigo desde primer semestre, por enseñarme el valor de la amistad, por todos los momentos de risa y llanto que pasamos juntas, gracias por ser una voz de aliento en mi vida.

A David Castaño por estar presente a lo largo de estos cinco años, por ser mi apoyo cuando lo necesito, por darme fuerzas y ánimos para continuar, gracias por todo el amor y cariño brindado y por ayudarme a enfrentar cada obstáculo que he tenido.

A todos mis compañeros que fueron parte de este proceso, quienes de alguna manera me extendieron su ayuda y me acompañaron durante mi etapa universitaria.

A todos ustedes se los dedico y les agradeceré siempre.

*Paola Castro Castilla*

## DEDICATORIA

En primer lugar, quiero dedicar este trabajo a Dios, por la vida, la salud y la oportunidad de culminar mi carrera, porque gracias a él he llegado hasta donde estoy en este momento.

Dedico este trabajo a mi padre, quien puso su confianza en mí para realizar este sueño; y especialmente a mi madre, por sus consejos, sus valores y enseñanzas que aplico día a día, porque gracias a ti aprendí lo bella que puede ser la vida y sé que estarías orgullosa de lo que he logrado.

A mi tía Patricia, por ser mi segunda madre, por estar siempre dispuesta a escucharme, aconsejarme y animarme cada día a ser mejor persona.

A mi hermano Juan, por llenar mi vida de alegría, por ser mi apoyo cuando lo necesito, por las discusiones y momentos de risa. Gracias por compartir todo conmigo, espero seguir cumpliendo nuestros sueños y metas juntos.

A mi compañera de tesis y mejor amiga Paola, quien desde el principio de la carrera me brindó su amistad incondicional, por las vivencias a lo largo de estos cinco años, por los momentos de risas, como de llanto. Gracias por el apoyo que me has brindado profesional y personalmente, y por el esfuerzo que juntas hemos hecho para llegar hasta aquí.

A mi novio, amigo y compañero de vida Francisco, por estar siempre en cada momento de mi vida, por disfrutar mis logros y animarme en los momentos difíciles, por brindarme sus consejos, su alegría, su motivación, su cariño y tener siempre fe en mí. Tu apoyo ha sido imprescindible para mi vida y sé que juntos seguiremos construyendo nuestro futuro.

A toda mi familia, mis abuelos, tíos y primos por acompañarme durante todo el trayecto de mi carrera y a todos mis amigos y compañeros con quienes pude compartir a lo largo de mi paso por la universidad.

*Sara Carolina Mendoza*

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios, primeramente, por darnos la vida y la oportunidad de alcanzar un peldaño más en nuestra vida profesional.

A nuestro director e ingeniero Juan Andrés Sandoval Herrera, por el apoyo brindado a lo largo de este proyecto, por su guía, dedicación, entrega, apoyo y acompañamiento con sus conocimientos esenciales para culminar esta meta.

A nuestro codirector Felipe Correa por el interés y aportes durante la formulación del presente proyecto.

A la Fundación Universidad de América, por el préstamo de equipos y laboratorios para el desarrollo experimental llevados a cabo en este proyecto.

Finalmente, se extiende un agradecimiento a los profesores de la universidad que estuvieron presentes con sus conocimientos, experiencias y correcciones durante nuestro proceso de aprendizaje.

Las directivas de la Universidad de América, los jurados calificadores y el cuerpo docente no son responsables por los criterios e ideas expuestas en el presente documento. Estos corresponden únicamente a los autores.

## TABLA DE CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	17
OBJETIVOS	19
1. MARCO TEÓRICO	20
1.1. Uva ( <i>vitis vinífera</i> )	20
1.1.1. <i>Taxonomía</i>	21
1.1.2. <i>Descripción botánica</i>	21
1.1.3. <i>Composición nutricional</i>	22
1.1.4. <i>Producción de uva</i>	23
1.1.5. <i>Residuos de la uva</i>	23
1.2. Mandarina ( <i>citrus reticulata</i> )	23
1.2.1. <i>Taxonomía</i>	24
1.2.2. <i>Descripción botánica</i>	25
1.2.3. <i>Composición nutricional</i>	25
1.2.4. <i>Producción de mandarina</i>	26
1.2.5. <i>Residuos de la mandarina</i>	27
1.3. Colorante	27
1.3.1. <i>Colorante sintético</i>	27
1.3.2. <i>Colorante natural</i>	28
1.4. Clasificación de los colorantes naturales	29
1.4.1. <i>Betaláinicos</i>	29
1.4.2. <i>Clorofílicos</i>	29
1.4.3. <i>Antociánicos</i>	29
1.4.4. <i>Carotenoides</i>	30
1.5. Antocianinas	30
1.5.1. <i>Estructura química</i>	30
1.5.2. <i>Factores que afectan la estabilidad de las antocianinas</i>	31
1.5.3. <i>Propiedades funcionales de las antocianinas</i>	32
1.6. Carotenoides	33



1.6.1.	<i>Estructura química</i>	33
1.6.2.	<i>Factores que afectan la estabilidad de los carotenoides</i>	34
1.6.3.	<i>Propiedades funcionales de los carotenoides</i>	35
1.7.	Métodos de análisis proximal bromatológico de los alimentos	35
1.8.	Procesos de extracción de pigmentos naturales	36
1.8.1.	<i>Extracción convencional Soxhlet</i>	37
2.	CARACTERIZACIÓN DE LA MUESTRA	41
2.1.	Acondicionamiento de la materia prima	41
2.1.1.	<i>Proceso de selección</i>	41
2.1.2.	<i>Preparación de la muestra inicial</i>	43
2.2.	Análisis proximal	43
2.2.1.	<i>Contenido de humedad</i>	43
2.2.2.	<i>Contenido de cenizas totales</i>	45
2.2.3.	<i>Contenido de proteínas totales</i>	47
2.2.4.	<i>Contenido de grasa bruta</i>	48
2.2.5.	<i>Contenido de fibra cruda</i>	50
2.2.6.	<i>Determinación de carbohidratos</i>	52
3.	EXTRACCIÓN	54
3.1.	Secado de la materia prima	54
3.2.	Extracción Soxhlet	56
3.3.	Purificación del extracto	61
3.4.	Rendimiento de la extracción	61
4.	CARACTERIZACIÓN DE LOS COLORANTES OBTENIDOS	63
4.1.	Cuantificación de antocianinas	63
4.1.1.	<i>Ensayo ácido-base</i>	63
4.1.2.	<i>Espectrofotometría</i>	64
4.2.	Cuantificación de carotenoides	67
4.3.	Análisis fisicoquímico	69
4.3.1.	<i>Densidad</i>	69
4.3.2.	<i>Solubilidad</i>	70
4.3.3.	<i>pH</i>	72

4.3.4. <i>Índice de refracción</i>	72
4.3.5. <i>Grados Brix</i>	73
4.4. <i>Análisis microbiológico</i>	73
4.4.1. <i>Escherichia coli</i>	74
4.4.2. <i>Coliformes totales</i>	74
4.4.3. <i>Mohos y levaduras</i>	75
4.5. <i>Estabilidad de los colorantes</i>	76
4.5.1. <i>pH</i>	76
4.5.2. <i>Temperatura</i>	82
4.5.3. <i>Luz</i>	89
CONCLUSIONES	93
BIBLIOGRAFÍA	95
ANEXOS	104

## LISTA DE FIGURAS

	pág.
<b>Figura 1.</b> <i>Uva Vitis Vinífera.</i>	21
<b>Figura 2.</b> <i>Mandarina Citrus reticulata blanco.</i>	24
<b>Figura 3.</b> <i>Producción de cítricos en Colombia para el año 2017.</i>	26
<b>Figura 4.</b> <i>Estructura química y presencia de antocianinas comunes.</i>	31
<b>Figura 5.</b> <i>Estructura básica de carotenoides.</i>	33
<b>Figura 6.</b> <i>Diagrama esquemático que muestra la técnica de extracción Soxhlet.</i>	39
<b>Figura 7.</b> <i>Muestreo de la mandarina como materia prima.</i>	42
<b>Figura 8.</b> <i>Muestreo de la uva como materia prima.</i>	42
<b>Figura 9.</b> <i>Determinación del contenido de humedad por secado.</i>	44
<b>Figura 10.</b> <i>Determinación del contenido de cenizas por incineración.</i>	46
<b>Figura 11.</b> <i>Montaje para la determinación de grasa bruta.</i>	49
<b>Figura 12.</b> <i>Montaje para la determinación de fibra cruda.</i>	51
<b>Figura 13.</b> <i>Filtración para la determinación de fibra cruda.</i>	51
<b>Figura 14.</b> <i>Muestra de mandarina seca.</i>	55
<b>Figura 15.</b> <i>Muestra de uva seca.</i>	55
<b>Figura 16.</b> <i>Montaje Soxhlet para la extracción A.</i>	60
<b>Figura 17.</b> <i>Montaje Soxhlet para la extracción B.</i>	60
<b>Figura 18.</b> <i>Montaje para la purificación del extracto.</i>	61
<b>Figura 19.</b> <i>Ensayo ácido base para la presencia de antocianinas.</i>	64
<b>Figura 20.</b> <i>Relación de absorbancia y longitud de onda para el extracto de uva.</i>	66
<b>Figura 21.</b> <i>Relación de absorbancia y longitud de onda para el extracto de mandarina.</i>	68
<b>Figura 22.</b> <i>Determinación de la densidad de los extractos.</i>	70
<b>Figura 23.</b> <i>Ensayo de solubilidad para el extracto de uva.</i>	71
<b>Figura 24.</b> <i>Ensayo de solubilidad para el extracto de mandarina.</i>	71
<b>Figura 25.</b> <i>Análisis microbiológico de la presencia de Escherichia coli.</i>	74
<b>Figura 26.</b> <i>Análisis microbiológico de la presencia de coliformes totales.</i>	75
<b>Figura 27.</b> <i>Análisis microbiológico de la presencia de mohos y levaduras.</i>	75
<b>Figura 28.</b> <i>Estabilidad del extracto de hollejo de uva a pH ácido.</i>	76
<b>Figura 29.</b> <i>Estabilidad del extracto de hollejo de uva a pH neutro.</i>	77
<b>Figura 30.</b> <i>Estabilidad del extracto de hollejo de uva a pH básico.</i>	78
<b>Figura 31.</b> <i>Estabilidad del extracto de la cáscara de mandarina a pH ácido.</i>	80
<b>Figura 32.</b> <i>Estabilidad del extracto de la cáscara de mandarina a pH neutro.</i>	81
<b>Figura 33.</b> <i>Estabilidad del extracto de la cáscara de mandarina a pH básico.</i>	82
<b>Figura 34.</b> <i>Estabilidad del extracto de hollejo de uva a refrigeración.</i>	83

<b>Figura 35.</b> <i>Estabilidad del extracto de hollejo de uva a congelación.</i>	84
<b>Figura 36.</b> <i>Estabilidad del extracto de hollejo de uva a temperatura ambiente.</i>	85
<b>Figura 37.</b> <i>Estabilidad del extracto de la cáscara de mandarina a refrigeración.</i>	86
<b>Figura 38.</b> <i>Estabilidad del extracto de la cáscara de mandarina a congelación.</i>	87
<b>Figura 39.</b> <i>Estabilidad del extracto de la cáscara de mandarina a temperatura ambiente.</i>	88
<b>Figura 40.</b> <i>Estabilidad del extracto de hollejo de uva a oscuridad.</i>	89
<b>Figura 41.</b> <i>Estabilidad del extracto de hollejo de uva a luz natural.</i>	90
<b>Figura 42.</b> <i>Estabilidad del extracto de la cáscara de mandarina a oscuridad.</i>	91
<b>Figura 43.</b> <i>Estabilidad del extracto de la cáscara de mandarina a luz natural.</i>	92

## LISTA DE TABLAS

	pág.
<b>Tabla 1.</b> <i>Clasificación taxonómica de la uva.</i>	21
<b>Tabla 2.</b> <i>Composición nutricional de la uva <i>Vitis vinífera</i>.</i>	22
<b>Tabla 3.</b> <i>Clasificación taxonómica de la mandarina.</i>	24
<b>Tabla 4.</b> <i>Composición nutricional de la mandarina.</i>	25
<b>Tabla 5.</b> <i>Principales colorantes sintéticos en la industria alimentaria.</i>	28
<b>Tabla 6.</b> <i>Comparación bibliográfica de algunos métodos de extracción.</i>	37
<b>Tabla 7.</b> <i>Contenido de humedad de las muestras.</i>	44
<b>Tabla 8.</b> <i>Contenido de cenizas de las muestras.</i>	46
<b>Tabla 9.</b> <i>Contenido de proteína de las muestras.</i>	47
<b>Tabla 10.</b> <i>Contenido de grasa bruta en las muestras.</i>	50
<b>Tabla 11.</b> <i>Contenido de fibra cruda en las muestras.</i>	52
<b>Tabla 12.</b> <i>Contenido de carbohidratos de las muestras.</i>	53
<b>Tabla 13.</b> <i>Porcentaje de degradación de antocianinas durante el proceso de secado.</i>	55
<b>Tabla 14.</b> <i>Porcentaje de humedad de las muestras previo a la extracción.</i>	56
<b>Tabla 15.</b> <i>Revisión bibliográfica de los parámetros de extracción Soxhlet.</i>	57
<b>Tabla 16.</b> <i>Selección de las condiciones del proceso de extracción.</i>	59
<b>Tabla 17.</b> <i>Rendimiento de la primera extracción.</i>	62
<b>Tabla 18.</b> <i>Rendimiento de la segunda extracción.</i>	62
<b>Tabla 19.</b> <i>Promedio de antocianinas obtenidas del extracto de uva.</i>	66
<b>Tabla 20.</b> <i>Promedio de carotenoides obtenidos de los extractos de cáscara de mandarina.</i>	68
<b>Tabla 21.</b> <i>Determinación de la densidad de los extractos.</i>	70
<b>Tabla 22.</b> <i>Medición de pH de los extractos.</i>	72
<b>Tabla 23.</b> <i>Medición del índice de refracción de los extractos.</i>	72
<b>Tabla 24.</b> <i>Medición de los grados Brix de los extractos.</i>	73
<b>Tabla 25.</b> <i>Promedio de antocianinas obtenidas para el extracto de uva a pH ácido.</i>	77
<b>Tabla 26.</b> <i>Promedio de antocianinas obtenidas para el extracto de uva a pH neutro.</i>	78
<b>Tabla 27.</b> <i>Promedio de antocianinas obtenidas para el extracto de uva a pH básico.</i>	79
<b>Tabla 28.</b> <i>Promedio de carotenoides obtenidos de los extractos de cáscara de mandarina a pH ácido.</i>	80
<b>Tabla 29.</b> <i>Promedio de carotenoides obtenidos de los extractos de cáscara de mandarina a pH neutro.</i>	81
<b>Tabla 30.</b> <i>Promedio de carotenoides obtenidos de los extractos de cáscara de mandarina a pH básico.</i>	82

<b>Tabla 31.</b> <i>Promedio de antocianinas obtenidas para el extracto de uva a refrigeración.</i>	83
<b>Tabla 32.</b> <i>Promedio de antocianinas obtenidas para el extracto de uva a congelación.</i>	84
<b>Tabla 33.</b> <i>Promedio de antocianinas obtenidas para el extracto de uva a temperatura ambiente.</i>	85
<b>Tabla 34.</b> <i>Promedio de carotenoides obtenidos de los extractos de cáscara de mandarina a refrigeración.</i>	86
<b>Tabla 35.</b> <i>Promedio de carotenoides obtenidos de los extractos de cáscara de mandarina a congelación.</i>	87
<b>Tabla 36.</b> <i>Promedio de carotenoides obtenidos de los extractos de cáscara de mandarina a temperatura ambiente.</i>	88
<b>Tabla 37.</b> <i>Promedio de antocianinas obtenidas para el extracto de uva a oscuridad.</i>	89
<b>Tabla 38.</b> <i>Promedio de antocianinas obtenidas para el extracto de uva a luz natural.</i>	90
<b>Tabla 39.</b> <i>Promedio de carotenoides obtenidos de los extractos de cáscara de mandarina a oscuridad.</i>	91
<b>Tabla 40.</b> <i>Promedio de carotenoides obtenidos de los extractos de cáscara de mandarina a luz natural.</i>	92

## LISTA DE ABREVIATURAS Y UNIDADES

**A:** Absorbancia.

**AOAC:** Asociación de químicos agrícolas oficiales.

**FD&C:** Ley Federal de alimentos, medicamentos y cosméticos.

**g:** Gramo.

**H:** Horas.

**hL:** Hectolitro.

**kg:** Kilogramo.

**L:** Litro.

**mg:** Miligramo.

**min:** Minuto.

**mL:** Mililitro.

**msnm:** Metros sobre el nivel del mar.

**N:** Normalidad.

**nm:** Nanómetro.

**OIV:** Organización internacional del vino.

**pH:** Potencial de hidrógeno.

**PM:** Peso molecular.

**S/MP:** Relación solvente-materia prima.

**Ton:** Tonelada.

**UFC:** Unidades formadoras de colonias.

**v/w:** Relación volumen-peso.

**$\epsilon$ :** Absortividad molar.

**$\rho$ :** Densidad.

**$\lambda$ :** Longitud de onda.

**$\mu\text{g}$ :** Microgramos.

**%H:** Porcentaje de humedad.

**%P/P:** Porcentaje en peso.

## RESUMEN

En el presente documento se plantea el desarrollo y evaluación de la obtención de colorante a partir de la cáscara de mandarina y el hollejo de uva desde un enfoque técnico del proceso de extracción de carotenoides y antocianinas respectivamente; con el fin de generar valor a cada una de las materias primas con la innovación de productos naturales que cumplan con las características y especificaciones del mercado.

El desarrollo experimental se llevó a cabo mediante un análisis bromatológico proximal con el fin de analizar los componentes más abundantes presentes en las muestras, asimismo, se realizó una revisión bibliográfica comparando trabajos similares, los cuales definieron las condiciones del proceso de extracción Soxhlet como solvente etanol al 96%, relación volumen-peso de 20:1 y temperatura entre 60°C y 70°C para evitar la degradación de los compuestos de interés, obteniéndose un rendimiento de extracción en promedio de 71.95% para la cáscara de mandarina con 1139 µg β-caroteno/100 g y 61,57% para la cáscara de uva con 23.39 mg cianidina-3-glucósido/100 g de materia seca.

Finalmente, los extractos se sometieron a pruebas fisicoquímicas para evaluar la calidad de los colorantes obtenidos, tales como pH, densidad, solubilidad, índice de refracción y grados Brix, además de pruebas microbiológicas que muestran inocuidad en los extractos. Finalmente, los colorantes fueron sometidos a pruebas de estabilidad a diferentes condiciones de temperatura, luz y pH, en un lapso de 7 días, donde se identificó las mejores condiciones de almacenamiento a refrigeración con 2-3°C y ausencia de luz natural directa.

**PALABRAS CLAVE:** Colorante, antocianinas, carotenoides, extracción Soxhlet, mandarina, uva.



## INTRODUCCIÓN

Actualmente existe un gran número de procesos industriales debido a las crecientes necesidades que tienen los seres humanos diariamente, por lo cual, se requiere el uso de importantes sustancias químicas como por ejemplo, colorantes y pigmentos sintéticos que se usan en multitud de industrias como la alimentaria, cosmética y textil; se conoce que estos colorantes sintéticos traen repercusiones a la salud humana debido a que están hechos a base de metales altamente tóxicos, siendo señalados de promover o causar toxicidad en el organismo del consumidor, reacciones alérgicas, afecciones al sistema respiratorio y cardíaco y enfermedades como el cáncer; lo cual ha suscitado mucha controversia y numerosos estudios científicos relacionados con los efectos que estas sustancias puedan causar.

Dado que, los colorantes se han convertido en parte esencial dentro de los procesos de fabricación, siendo el color un parámetro base que determina la aceptabilidad o preferencias del consumidor; se han buscado nuevas alternativas en el mercado, especialmente en la industria alimentaria con el uso de colorantes procedentes de fuentes naturales como es el caso de antocianinas y carotenoides, encontrados en gran cantidad en plantas, vegetales y frutas las cuales, según investigaciones, son aptas para la coloración de diferentes productos industriales y posibles sustitutos de colorantes sintéticos actuales. Cabe destacar el potencial de muchos residuos agrícolas como fuente de recuperación de pigmentos naturales y compuestos fenólicos; además de poseer propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, benéficas para la salud.

Este proyecto surge a partir de la necesidad de aportar en la investigación científica implementando la extracción de colorantes naturales a partir de residuos orgánicos de la actividad industrial y procesos agro, como la cáscara de mandarina (*Citrus reticulata*), que cuenta con una producción global del 27% del total de cítricos y se encuentra dentro de las diez frutas más consumidas [1]; y el hollejo de uva (*Vitis vinífera* 'Cabernet Sauvignon'), siendo uno de los cultivos con mayor producción a nivel mundial y de los que generan mayores ingresos, sobre todo cuando se usan con fines de vinificación [2].

Adicionalmente, teniendo en cuenta el interés de estudio en las antocianinas y los carotenoides, pigmentos naturales que además poseen propiedades beneficiosas para el consumidor en la prevención de enfermedades crónico degenerativas [3], abordando los residuos agrícolas como fuentes naturales de compuestos activos con gran aplicación industrial.

Para tal fin, se parte de la investigación teórica de los colorantes sintéticos y naturales, así como de la comprensión de los compuestos de interés presentes en variedad de alimentos naturales y el estableciendo de las variables involucradas en el proceso; asimismo, se realiza la caracterización de las materias primas mediante un análisis bromatológico proximal para el posterior análisis de eficiencia de los colorantes naturales. La extracción de colorantes se realiza partiendo del hollejo de uva y la cáscara de mandarina a escala laboratorio por el método Soxhlet utilizando como solvente etanol al 96%. La presencia de antocianinas y carotenoides se determina mediante una cuantificación espectrofotométrica; una vez obtenido los colorantes, se evalúan sus características fisicoquímicas y microbiológicas junto con el análisis de estabilidad de los compuestos de interés a condiciones de pH, temperatura, luz y su tiempo de almacenamiento.

De este modo, el hollejo de uva y la cáscara de mandarina pueden constituirse como un potencial en diversos procesos industriales aprovechando sus características y propiedades, como fuente de pigmentos naturales que, para tal efecto, constituyen una alternativa para la sustitución de colorantes artificiales en diferentes industrias, como la industria alimentaria, y que, adicionalmente, permita el aprovechamiento de residuos propios de la actividad agro e industrial.

## OBJETIVOS

### Objetivo general

Evaluar la viabilidad técnica de la extracción de los colorantes naturales a partir del hollejo de uva (*Vitis vinifera* 'Cabernet Sauvignon') y la cáscara de mandarina (*Citrus reticulata*) para uso en industria alimentaria.

### Objetivos específicos

1. Caracterizar el hollejo de uva y la cáscara de mandarina mediante un análisis bromatológico proximal.
2. Establecer las condiciones del proceso de extracción de colorantes naturales partiendo del hollejo de uva y la cáscara de mandarina a escala laboratorio por el método Soxhlet.
3. Realizar la caracterización de los colorantes obtenidos a partir de pruebas fisicoquímicas y análisis microbiológico.

## 1. MARCO TEÓRICO

En este capítulo se lleva a cabo la recopilación de información, con el propósito de contextualizar algunos conceptos en torno a la evaluación del proceso de extracción de colorante natural. En primer lugar, se especifican algunos conceptos y generalidades de las materias primas en estudio, teniendo en cuenta principalmente el producto de desecho, específicamente sus cáscaras, seguido de la clasificación de los colorantes naturales, los métodos de extracción más relevantes, enfocado en las principales características y variables a tener en cuenta para el método de extracción Soxhlet utilizado durante el desarrollo del proyecto y sus respectivas pruebas de caracterización bromatológica, cuantificación de antocianinas y carotenoides.

### 1.1. Uva (*vitis vinífera*)

La uva es una fruta carnososa, de tipo baya, pluriseminado; es cultivada popularmente en regiones templadas debido a que, cuenta con temperaturas óptimas de desarrollo, las cuales se encuentran aproximadamente entre los 18 y 26 °C; asimismo, en relación a las características del suelo y riego, crece favorablemente en aquellos que poseen profundidad, grandes cantidades de materia orgánica y con buenos drenajes de aguas [4]. En Colombia, se registran cifras de producción de más de 30.000 toneladas al año, en donde gran parte de la cosecha se obtiene en Valle del Cauca, lugar que cuenta con un 85% de producción nacional y 86,9% del área total sembrada en todo el país; sin embargo, el cultivo de uva también se destaca en otras zonas como Amazonas, Antioquia, Boyacá y Huila; siendo su uso principal la producción de vino [5].

**Figura 1.**  
*Uva Vitis Vinífera.*



**Nota.** La figura muestra el racimo maduro de la Vid. Tomado de: W. Lendl, "Racimo maduro." 2004, [Online]. Available: <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=200463>.

### 1.1.1. Taxonomía

**Tabla 1.**  
*Clasificación taxonómica de la uva.*

<b>Orden</b>	<b>Vitales</b>
<b>Familia</b>	Vitáceas
<b>Reino</b>	Plantae
<b>Nombre común</b>	Vid
<b>Nombre científico</b>	Vitis Vinífera

**Nota.** La tabla muestra la información taxonómica de la planta Vitis Vinífera. Tomado de: E. Llamuca, "Extracción de colorantes naturales de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*), mora andina (*Rubus glaucus*) y uva (*Vitis vinífera*) para el uso en la industria de alimentos," *Esc. Super. Politécnica Chimborazo. Riobamba, Ecuador.*, p. 95, 2015.

### 1.1.2. Descripción botánica

La planta de la uva se caracteriza por alcanzar alturas hasta de 35 m; esta planta es leñosa, trepadora y robusta, con hojas pecioladas grandes y palmeadas de 5-15 cm aproximadamente [6]. Su flores se caracterizan por tener un olor agradable similar a un

perfume con un cáliz en forma de planillo de color verde y su corola tiene 5 pétalos con tamaño de 5 mm y su fruto redondo tipo baya con colores característicos, en estado de maduración pueden ser verdes, rojos y negros, tamaños de 6-22 mm con 2-4 semillas [6]. Se cultiva principalmente en climas mediterráneos por el interés de sus frutos y actualmente puede encontrarse en muy diversas regiones, predominando en aquellas donde se dan climas templados [7].

### 1.1.3. Composición nutricional

La uva contiene más de un 80% de agua, es rica en hidratos de carbono como la glucosa y fructosa. Entre sus minerales se encuentra el potasio, fósforo y calcio principalmente; además, posee propiedades beneficiosas al presentar dentro de su composición vitamina C, vitamina A y ácido fólico, como se evidencia en la tabla 2.

**Tabla 2.**  
*Composición nutricional de la uva Vitis vinífera.*

	Por 100 g de porción comestible	Por racimo (160 g)
Energía (kcal)	69	99
Proteínas(g)	0,6	0,9
Lípidos totales (g)	Tr	Tr
Hidratos de carbono (g)	16,1	23,2
Fibra (g)	0,9	1,3
Agua(g)	82,4	119
Calcio (mg)	17	24,5
Hierro (mg)	0,4	0,6
Yodo (µg)	2	2,9
Magnesio (mg)	10	14,4
Zinc (mg)	0,1	0,1
Sodio(mg)	2	2,9
Potasio (mg)	250	360
Fósforo (mg)	22	31,7
Selenio (µg)	1	1,4
Tiamina (mg)	0,04	0,06
Riboflavina (mg)	0,02	0,03
Equivalentes niacina (mg)	0,3	0,4
Vitamina B (mg)	0,1	0,14
Folatos (µg)	6	8,6
Vitamina B12 (µg)	0	0
Vitamina C (mg)	4	5,8
Vitamina A: Eq. Retinol (µg)	3	4,3
Vitamina D (µg)	0	0
Vitamina E (mg)	Tr	Tr

**Nota.** La tabla muestra el valor energético y de nutrientes que posee la uva. Tomado de: FEN, "Grape Vitis vinífera L," *Fund. Española la Nutr.*, pp. 301–302, 2006.

#### **1.1.4. Producción de uva**

El cultivo de la uva, es uno de los de mayor producción a nivel mundial y de los que generan mayores ingresos, sobre todo cuando se usan con fines de vinificación. La organización Internacional del Vino (OIV) estima la producción mundial en 74 millones de toneladas en cultivos con cerca de 7.4 millones de hectáreas y un poco más de 279 millones hL de vino [2]. En Colombia, la producción de uva para vino no es usual debido a condiciones climáticas, y los cultivos se concentran en el Valle del Cauca, Antioquia y Boyacá [8]. En el 2016 había 2592 hectáreas de superficie de viñedo en Colombia [2].

#### **1.1.5. Residuos de la uva**

Actualmente, 9 millones de toneladas de este residuo orgánico se producen por año en el mundo [9], que constituye el 20% (p / p), en promedio, del total de las uvas utilizadas para la producción de vino. Hablando de un viñedo en específico ubicado en Villa de Leyva, Umaña Dajud, cuenta con 2700 kg de Vid, generando aproximadamente 810 kg de residuos al año [8], este viñedo ha contribuido a investigaciones de extracción de bioactivos del hollejo de uva, sin embargo, por factores externos no pudo ser parte del presente proyecto.

### **1.2. Mandarina (*Citrus reticulata*)**

La mandarina (Figura 2) es uno de los cítricos más representativos en Colombia, es ampliamente cultivado por su amplia adaptación a las condiciones climáticas; no obstante, sus variedades son muy específicas en cuanto a requerimientos climáticos [10]. En Colombia las variedades de mandarina Oneco en el occidente del país y la variedad Arrayana en el oriente y centro, son las más cultivadas y por su volumen son los frutales de mayor importancia [11]; éste fruto se desarrolla desde el nivel del mar hasta los 2000 msnm, su cultivo se extiende generalmente a las regiones tropicales y subtropicales, con una latitud entre los 23.5 y 40° en los hemisferios norte y sur y los ciclos anuales de crecimiento de las plantas se regulan por las modificaciones climáticas presentadas por las estaciones [11]. Los mandarinos cultivados en el subtrópico generalmente se desarrollan a temperaturas entre 15 y 20 °C, con inviernos leves a severos, mientras que

en los trópicos se desarrollan a temperaturas entre los 20 y 30 °C y no se presentan períodos de reposo por bajas temperaturas [10].

**Figura 2.**  
*Mandarina Citrus reticulata blanco.*



**Nota.** La figura muestra un mandarino maduro. Tomado de: Soerfm, "Mandarina." 2011, [Online]. Available: <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=64000>.

### 1.2.1. Taxonomía

**Tabla 3.**  
*Clasificación taxonómica de la mandarina.*

<b>Reino</b>	Plantae
<b>Subreino</b>	Geraniales
<b>División</b>	Embriofita
<b>Familia</b>	Rutaceae
<b>Sub familia</b>	Aurantioidea
<b>Tribu</b>	Citrae
<b>Género</b>	Citrus
<b>Especie</b>	Reciculata

**Nota.** La tabla muestra la información taxonómica de la planta Citrus Reticulata. Tomado de: D. Maritza, "Evaluación de la capacidad antioxidante de los extractos alcohólico y acuoso de la cáscara de la mandarina (Citrus reticulata) en relación a un medicamento antioxidante comercial," *Univ. Politec. Sales.*, p. 10,11, 2020 Y R. Coronado, "Elaboración de Una Bebida con Extracto de Zanahoria (Daucus Carota) Combinado con Zumo de Mandarina (Citrus Reticulata) y Naranja Agria (Citrus Aurantium) y Evaluación de su Capacidad Antioxidante," *Univ. Nac. José Faustino Sánchez Carrión*, vol. 24, no. 4, pp. 233–244, 2019, doi: 10.1145/1390630.1390641.



### 1.2.2. Descripción botánica

Árbol pequeño a mediano de hasta 4 metros de alto, con ramas flexibles y delgadas que contienen pequeñas espinas axilares, sus hojas son anchas o angostas indistintamente, son esbeltas de color verde con aroma a cítrico; posee flores pequeñas; el fruto es redondo y algo achatado, de piel delgada y color naranja, de sabor dulce, con diámetro variable de 5 a 10 centímetros y segmentos fácilmente separables [12].

### 1.2.3. Composición nutricional

Como se observa en la tabla 4, el componente mayoritario en las mandarinas es el agua, cantidad considerable en comparación con otras frutas de su género; asimismo aporta menor cantidad de azúcares, se puede observar una pequeña cantidad de fibra principalmente en la corteza; al igual, es fuente de vitaminas, en las cuales sobresale la Vitamina C, y la provitamina A, además de cantidades destacables de ácido cítrico, potasio y magnesio.

**Tabla 4.**  
*Composición nutricional de la mandarina.*

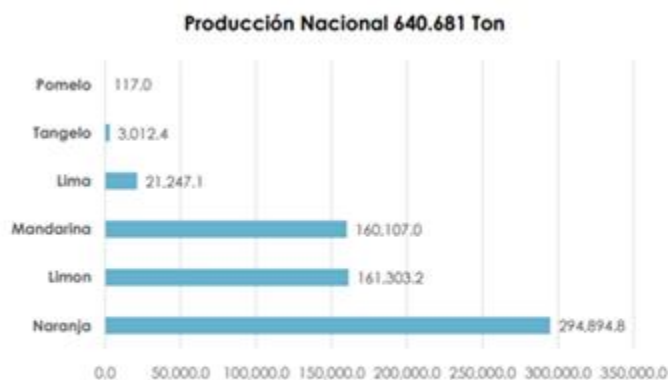
Mandarina (100gr De Sustancia Comestible)	
Agua	87g
Proteínas	0.8g
Lípidos	0.2g
Carbohidratos	11.6g
Calorías	46 kcal
Vitamina A	420ul
Vitaminab1	0.07mg
Vitamina B6	0.06mg
Ácido Nicotínico	0.2mg
Ácido Pantoténico	0.2mg
Vitamina C	31MG
Potasio	110mg
Calcio	40mg
Magnesio	11mg

**Nota.** La tabla muestra el valor energético y de nutrientes que posee la mandarina. Tomado de: R. Coronado, "Elaboración de Una Bebida con Extracto de Zanahoria (*Daucus Carota*) Combinado con Zumo de Mandarina (*Citrus Reticulata*) y Naranja Agria (*Citrus Aurantium*) y Evaluación de su Capacidad Antioxidante," *Univ. Nac. José Faustino Sánchez Carrión*, vol. 24, no. 4, pp. 233–244, 2019, doi: 10.1145/1390630.1390641.

#### 1.2.4. Producción de mandarina

La mandarina dentro del cultivo de cítricos ocupa el segundo lugar de importancia después de la naranja; la producción de esta fruta es elevada, especialmente en países con altas actividades agrícolas. Según el ministerio de agricultura y desarrollo rural, como se observa en la figura 3, en Colombia se estimó una producción de mandarinas de 160107 toneladas para el año 2017 y hasta 8067 hectáreas de cultivo para el año 2011, siendo Santander el departamento con mayor área cultivada; de igual forma, se destaca que, como se mencionó anteriormente, entre las especies de cítricos más comercializadas en Colombia están las variedades de mandarina Oneco y Arrayana; esta última, en particular es cosechada en la región de los Llanos Orientales, donde existen alrededor de 1000 hectáreas. La importancia de la mandarina Arrayana radica en que tiene la mayor demanda en el mercado de Bogotá tanto para consumo en fresco, como para la elaboración industrial de jugos y zumos [11], [13].

**Figura 3.**  
*Producción de cítricos en Colombia para el año 2017.*



Fuente Evaluaciones Agropecuarias, 2017



**Nota.** La gráfica muestra las toneladas producidas de algunos cítricos al año 2017 a nivel nacional. Tomado de: M. de A. y D. Rural, “Evaluaciones Agropecuarias Municipales EVA | Datos Abiertos Colombia.” 2017, [Online]. Available: <https://www.datos.gov.co/Agricultura-y-Desarrollo-Rural/Evaluaciones-Agropecuarias-Municipales-EVA/2pnw-mmge>.

### **1.2.5. Residuos de la mandarina**

En comparación con otros cítricos, la mandarina se ha distinguido por su fácil consumo, su sabor y específicamente su valor nutricional, ocasionando un aumento en el mercado a nivel mundial [14]. En Colombia se destacan algunas comercializadoras de cítricos, donde gran parte de la industria procesadora se encuentra ubicada en el Eje Cafetero, la cual abastece a grandes superficies del país como almacenes Grupo Éxito y Carulla con frutas en frescos y productos asociados como zumos, purés, néctares, concentrados, entre otros, que, generan grandes cantidades de residuos de semillas y cáscaras [14]. Así, por ejemplo, del cultivo mundial de cítricos estiman que cada año se producirían alrededor de 40 millones de toneladas de residuos, en los que el principal desecho es la cáscara, que representa cerca del 50% del peso fresco de la fruta [15].

## **1.3. Colorante**

Un colorante se define como cualquier sustancia capaz de impartir color, ya sea solo o a través de algún medio; son compuestos que pueden obtenerse de fuentes naturales o sintetizarse químicamente. Los colorantes son usados en diversas industrias tales como la textil, alimentaria y plástica con el objetivo de aumentar valor del producto en el mercado, con fines tales como, decoración de alimentos, teñido de textiles y producción de cosméticos [16].

### **1.3.1. Colorante sintético**

Se denomina tinte artificial o sintético a los colorantes producidos en laboratorios químicos, es decir, que no se encuentran en la naturaleza, y se caracterizan por su estabilidad y economía. Estos colorantes son usados principalmente en la industria alimentaria, farmacéutica y cosmética, en estas industrias, los colorantes sintéticos requieren de certificación para ser usados [17]. Como se observa en la Tabla 5, son algunos de los ejemplos de colorantes artificiales usados en la industria de alimentos y algunos otros retirados de la lista de Estados Unidos por sus posibles causas de riesgos no identificados para la salud de las personas.

**Tabla 5.**

*Principales colorantes sintéticos en la industria alimentaria.*

Sl. No.	Permitted Dyes	Delisted Dyes
1.	FD&C Blue No. 1: Brilliant Blue FCF, E133 (blue)	FD&C Red No. 2
2.	FD&C Blue No. 2: Indigotine, E132 (indigo)	FD&C Red No. 4
3.	FD&C Green No. 3: Fast Green FCF, E143 (turquoise)	FD&C Red No. 32
4.	FD&C Red No. 3: Erythrosine, E127 (pink)	FD&C Orange No. 1
5.	FD&C Red No. 40: Allura Red AC, E129 (red)	FD&C Orange No. 2
6.	FD&C Yellow No. 5: Tartrazine, E102 (yellow)	FD&C Yellows No. 1, 2, 3, and 4
7.	FD&C Yellow No. 6: Sunset Yellow FCF, E110 (orange)	FD&C Violet No. 1

**Nota.** La tabla muestra algunos de los colorantes artificiales permitidos y prohibidos para el uso en la industria de alimentos. Tomado de: M. Ramesh and A. Muthuraman, *Flavoring and coloring agents: Health risks and potential problems*. Elsevier Inc., 2018.

### **1.3.2. Colorante natural**

Los colorantes naturales son aquellos derivados de fuentes biológicas y naturales, tales como plantas, insectos, frutas, minerales y microorganismos. Los colorantes naturales, además de tener la capacidad de brindar color, llaman la atención por las propiedades beneficiosas al consumidor, contribuyendo a la producción de alimentos funcionales y productos seguros, debido a su origen natural [18].

Muchos de estos colorantes, por ser naturales, pueden llegar a ser muy sensibles e inestables a variaciones del pH, oxígeno, luz [18], limitando su uso y generando mayores investigaciones para mejorar las características del producto e incluir en mayor porcentaje su participación en el mercado.

Gracias a los efectos benéficos, propiedades sensoriales y de color que se han mejorado sustancialmente, en los últimos años ha crecido la investigación y el desarrollo enfocado en la búsqueda de nuevas fuentes de colorantes naturales; de la producción mundial de colorantes naturales, pueden destacarse algunos ejemplos tales como, colorante natural rojo anaranjado obtenido de la semilla de achiote (Annato E160), colorante natural verde extraído de plantas, césped y algas (Chlorella E140), tinte rojo natural obtenido del insecto *Dactylopius coccus* (Cochinilla E120), tintes betalaínicos como el obtenido de la remolacha (Betanina E162), cúrcuma, colorante comercializado extraído de los tallos de la cúrcuma (Curcuminoides E100), colorantes carotenoides obtenidos de forma natural de la extracción en zanahorias, cáscaras de frutas, aceites de palma y algas (Carotenoides E160a), colorantes antociánicos extraídos de fuentes naturales como la piel de uva, asimismo, de frutos rojos como arándanos, moras, frambuesas, maíz morado

y rábanos ( Antocianinas E163) [19], [20]; entre algunos otros colorantes que siguen siendo objeto de desarrollo.

#### **1.4. Clasificación de los colorantes naturales**

##### **1.4.1. *Betalaínicos***

Las betalaínas son pigmentos de color rojo y amarillo, son encontradas fácilmente en plantas Caryophyllales. Las betalaínas son consideradas una posible competencia de los pigmentos de antocianinas, siendo solubles en agua y encontrándose presente en las vacuolas de las células vegetales, no obstante, son diferentes respecto a su estructura. Este grupo puede clasificarse como betacianinas y betaxantinas variando el color de rojo a violeta o de amarillo a naranja respectivamente [17].

##### **1.4.2. *Clorofílicos***

Los pigmentos clorofílicos (E140) son pigmentos naturales de origen vegetal, encontrados en los cloroplastos de las plantas, su función principal es la fotosíntesis y son los encargados de proporcionar el color característico verde. Estos colorantes son insolubles en agua dada su naturaleza no polar, mezclados entonces en aceites vegetales. Dentro de este grupo se puede encontrar la clorofila A y clorofila B presentes en las hojas de las plantas [17].

##### **1.4.3. *Antociánicos***

Son pigmentos naturales vacuolares solubles en agua pertenecientes a la clase de flavonoides. La naturaleza funcional OH los hace solubles en agua. Los colorantes del grupo de antocianinas (E163) incluyen 3-desoxiantocianidinas, cianidina-3-glucósido, cianidina-3-rutinósido, malvidina-3-glucósido, metilpiranoantocianidinas, pelargonidina-3-glucósido, peonidina-3-glucósido y peonidina-3-glucósido. El grupo de colorantes antociánicos son los encargados de impartir colores como el rojo, púrpura, violeta y azul y son extraídos generalmente de fuentes vegetales, flores y variedades de frutas como de sus cáscaras [17].

#### **1.4.4. Carotenoides**

Los carotenoides son una clase de pigmentos liposolubles que se pueden extraer de plantas, algas y bacterias fotosintéticas; son los encargados de otorgar colores entre el rojo, naranja y amarillo. Asimismo, son colorantes naturalmente atractivos por sus potenciales antioxidantes y anticancerígenos [17].

Las materias primas seleccionadas para el presente proyecto se tuvieron en consideración debido a la cantidad de residuos generados luego de procesos industriales, así como de los pigmentos naturales presentes en las mismas, destacando también que, entre los tipos de colorantes naturales, «los carotenoides, que brindan diversos tonos de amarillo y naranja, han sido los de mayor representatividad con 31,8% de participación (US\$ 363 millones) en el mercado internacional de colorantes, junto con un segundo grupo de mayor representatividad que corresponde a las antocianinas, de los que se extrae colores azul, morado, rosado y rojo.» [21].

#### **1.5. Antocianinas**

Las antocianinas son compuestos responsables del color rojo-azul de muchas frutas y verduras, como las uvas y sus productos como los vinos. Estos pigmentos son solubles en agua y su cantidad aumenta a medida que madura la fruta. La malvidina es la principal antocianidina de las uvas tintas y el vino [22].

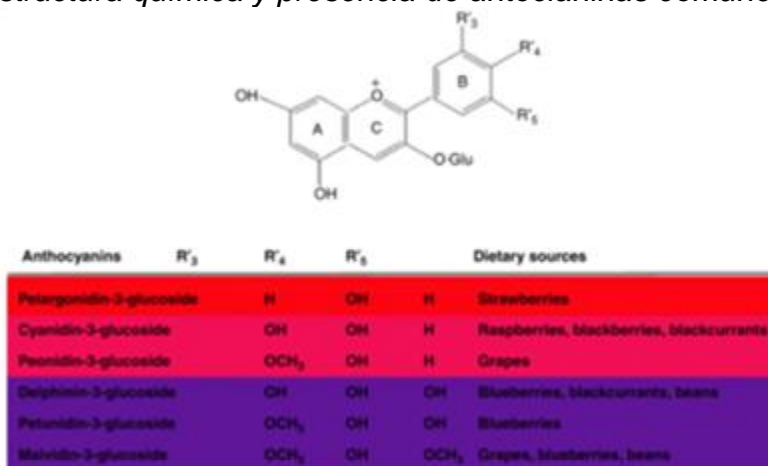
Los pigmentos naturales antocianos son una subclase de flavonoides llamados también flavonoides azules, compuestos de origen vegetal no nitrogenados, que se encuentran distribuidos en gran parte de la naturaleza [3].

##### **1.5.1. Estructura química**

La antocianina pertenece a un grupo más grande de compuestos conocidos como flavonoides, que es un subgrupo de compuestos conocidos como fenólicos. La estructura está principalmente en forma de glucósidos de su porción individual de aglicona del grupo antocianina, con el grupo de azúcar unido principalmente a antocianidinas como formas de mono, di o trisacárido con mayor frecuencia en C3, C5 o C7. La estructura de las antocianinas puede variar debido a la diferencia en el número y posición del hidroxilo y

el grado de grupos metoxilo en la molécula; el tipo, número y posiciones de azúcar que se adjunta; y la naturaleza, número y extensión de los ácidos alifáticos o aromáticos unidos al azúcar [16]. La enorme variedad de antocianinas (más de 600) que se encuentran en la naturaleza las convierte en un grupo muy complejo e interesante. Hasta ahora, hay alrededor de 19 tipos de antocianidinas, por lo que solo seis de ellas se encuentran más comúnmente en plantas comestibles, cianidina (Cy), delphinidina (Dp), petunidina (Pt), peonidina (Pn), pelargonidina (Pg), y malvidina (Mv) como se muestra en la figura 4. Estos patrones estructurales producen tonos que van del rojo anaranjado (pelargonidina) al azul violeta (delphinidina) [16].

**Figura 4.**  
*Estructura química y presencia de antocianinas comunes.*



**Nota.** La figura muestra la estructura general de las antocianinas donde los radicales pueden ser OH o H. Tomado de: A. A. Aziz, A. M. Padzil, and H. L. Lian, *Advanced natural Food Colorant Encapsulation Methods: Anthocyanin Plant Pigment*. Elsevier Inc., 2018.

### 1.5.2. Factores que afectan la estabilidad de las antocianinas

1.5.2.a. Temperatura. La temperatura es uno de los factores que afectan la estabilidad de las antocianinas ya que, estas son destruidas por el calor durante el procesamiento y almacenamiento [23], es decir, un incremento logarítmico en la destrucción de la antocianina ocurre con un incremento en la temperatura. Al secar las soluciones de antocianinas a temperatura mayor a 100 °C se degrada el color y a temperatura menor a 90 °C la degradación es mínima [3].

1.5.2.b. pH. Es uno de los factores más importantes de las antocianinas al experimentar transformaciones estructurales en función del pH del medio, son más estables en medio ácido que en un medio neutro o alcalino. En un pH ácido ( $\text{pH} < 4$ ), la forma predominante es la del ion flavilio, el cual aporta un color rojo intenso; mientras que, cuando está en medio básico es susceptible al ataque nucleofílico por el agua, adquiriendo un color violeta con un pH cercano a neutro, decreciendo la intensidad del color a medida que aumenta el pH, finalmente, con pH mayor a 5 tienden aparecer nuevamente una variedad de colores que van entre azules, verdes y amarillos [3], [23].

1.5.2.c. Luz y oxígeno. Las antocianinas son inestables a la luz y son más sensibles a la degradación fotoquímica. La presencia de oxígeno y ácido ascórbico contribuye a la degradación de las antocianinas; asimismo, la retención del color es mejorada cuando el oxígeno es removido por calentamiento, puede ser por vacío o por flujo de nitrógeno [23], [24].

1.5.2.d. Enzimas. Algunas enzimas como las polifenoloxidasas, peroxidas, esterasas y glicolasas degradan los compuestos fenólicos dando pigmentos de colores amarillos y café típico de un oscurecimiento; debido al rompimiento del anillo heterocíclico cuando existe el catecol generando o-quinona que oxida el pigmento [3].

### **1.5.3. Propiedades funcionales de las antocianinas**

Actualmente, el interés de los compuestos antociánicos especialmente en industrias de alimentos y bebidas, ya sea como colorantes naturales, alimentos funcionales o suplementos alimenticios, se ha incrementado al poseer propiedades farmacológicas y terapéuticas. Algunos efectos son anticancerígenos, antidiabéticos, antitumorales y antiinflamatorios; también puede mejorar el comportamiento cognitivo [25].

El consumo de antocianinas según estudios realizados a ratas de laboratorio, aporta al mejoramiento de la agudeza visual y del comportamiento cognitivo, por medio de suplementación nutricional con extractos de arándanos y fresas que contienen gran cantidad de antocianinas. Estos efectos demuestran las diversas propiedades funcionales interesantes que poseen; además, pueden llegar a representar una prometedora clase de compuestos útiles en el tratamiento de patologías [26].



Este grupo de pigmentos utilizados como colorantes especialmente en alimentos brinda una oportunidad de mejorar la apariencia del producto y asimismo, de cuidar la salud del consumidor [3].

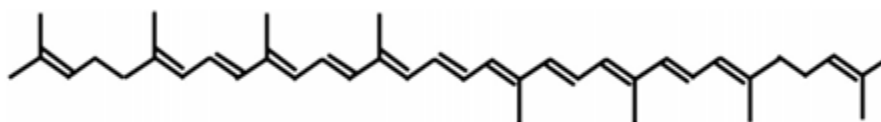
## 1.6. Carotenoides

Los carotenoides son pigmentos naturales liposolubles, ampliamente usados como colorantes, ya que se encuentran disponibles en colores como rojo a naranja e incluso amarillo. Este grupo de colorantes, posee además propiedades nutricionales que parecen ser precursores de vitaminas fundamentales, entre ellas la vitamina A. Los carotenoides pueden encontrarse en el exterior de los tejidos de frutas y en sus semillas [27], también están ampliamente distribuidos en vegetales, bacterias y algunos pocos en animales, particularmente invertebrados marinos. Los carotenoides, junto con los flavonoides y las clorofilas, son los pigmentos vegetales más distribuidos [28].

### 1.6.1. Estructura química

Los carotenoides son bien reconocidos por sus colores amarillo, naranja y rojo; estos colores son causados por su estructura química con una larga cadena de carbonos poligénico. El característico esqueleto del isoprenoide C40 y sus múltiples derivaciones dan como resultado numerosas estructuras diferentes y una amplia gama de propiedades físicas, químicas y biológicas, incluyendo los colores mencionados anteriormente [29].

**Figura 5.**  
*Estructura básica de carotenoides.*



**Nota.** La figura muestra la molécula de licopeno, que representa la estructura básica de los carotenoides arreglados en una estructura lineal de carbonos. Tomado de: Nagarajan, R. N. Ramanan, M. E. Raghunandan, C. M. Galanakis, and N. P. Krishnamurthy, *Carotenoids*. Elsevier Inc., 2017.

También se les conoce como moléculas poliinsaturadas, debido a la cantidad de dobles enlaces conjugados en su estructura (enlaces simples y dobles alternos). A medida que

aumenta el número de dobles enlaces en la cadena, la molécula se convierte en un sistema rico en electrones reactivos; así, los carotenoides de cadena larga son mucho más propensos a la oxidación e isomerización. La disposición de enlaces simples y dobles en la estructura determina la absorción de una longitud de onda particular en el espectro visible, mientras que la longitud de onda reflejada determina el color del pigmento en sí. Los carotenoides exhiben tres espectros de absorción máxima distintos entre el espectro visible que varían de 430 y 480 nm; como mínimo se requieren siete dobles enlaces conjugados para lograr la característica amarilla de los carotenoides [30]. Según la estructura química, los carotenoides que existen como hidrocarburos puros se denominan carotenos (alfa, beta-carotenos y licopeno) y aquellos que contienen oxígeno como grupo funcional en su estructura se conocen como xantofilas (beta criptoxantina, luteína y zeaxantina) [30].

### **1.6.2. Factores que afectan la estabilidad de los carotenoides**

1.6.2.a. Temperatura. Los carotenoides son pigmentos estables en su ambiente natural, pero cuando los alimentos se calientan, o son extraídos en disolución en disolventes orgánicos, se vuelven más lábiles. La influencia de la temperatura en la estabilidad es clara, ya que ésta actúa como un acelerador de la reacción de degradación [31].

1.6.2.b. pH. Los carotenoides extraídos, no son relativamente resistentes a valores de pH extremos, los ácidos y álcalis pueden provocar isomerizaciones *cis/trans* de ciertos dobles enlaces. Así, algunas xantofilas como fucoxantina y astaxantina son lábiles al medio alcalino, por ello, a la hora de analizar fuentes naturales de estos carotenoides, es recomendable no saponificar el extracto de pigmentos. De igual forma, los epoxi carotenoides son inestables en medio ácido [31].

1.6.2.c. Oxígeno. El oxígeno causa descomposición en las moléculas conjugadas por enlaces dobles, favoreciendo la oxigenación de estos enlaces a funciones epóxido, hidróxidos y peróxidos; por esta razón, es preferible realizar la extracción y cuantificación de estos compuestos en ausencia de oxígeno [28].

1.6.2.d. Luz. La acción intensa de la luz sobre los carotenos induce a su ruptura, la luz favorece reacciones fotoquímicas que cambian la estructura del carotenoide. Esta reacción es indispensable para tener en cuenta, ya que los carotenoides pueden perder

su función biológica de provitamina A, como su color característico; no obstante, se ha encontrado que la insaturación de los ácidos grasos presentes, protegen a los pigmentos ante estas condiciones [31].

### **1.6.3. *Propiedades funcionales de los carotenoides***

A través de los procesos metabólicos habituales, el grupo de carotenos se convierten en Vitamina A por medio de la acción de una enzima de división conocida como mono o dioxigenasa; estos se metabolizan aún más en derivados como el ácido retiniano y retinoico, que promueven el crecimiento corporal, la función visual y también el desarrollo embrionario de las madres embarazadas [30]. La gran diversidad de carotenoides juega un papel versátil en las funciones biológicas, que contribuyen a efectos terapéuticos de una serie de enfermedades crónicas. La ingesta de ciertos carotenoides puede reducir el desarrollo de células tumorales. Asimismo, el licopeno y los carotenoides de provitamina A se acumulan en gran medida en el tejido adiposo graso que rodea el corazón, previniendo la oxidación de la lipoproteína de baja densidad (LDL) en el tejido adiposo y reduciendo la infección miocárdica [30]. No obstante, no se debe exceder en el consumo de estos compuestos. Los carotenoides pueden ser usados como pigmentos en diversas industrias, además de esto, pueden servir como antioxidantes naturales para extender la vida útil de los productos alimenticios, así como componentes bioactivos en alimentos funcionales [32].

### **1.7. Métodos de análisis proximal bromatológico de los alimentos**

El método Weende se ha caracterizado por ser un método estándar para el análisis bromatológico de los alimentos, con el fin de analizar los componentes más abundantes que se encuentran dentro de los mismos, tales como agua, grasa total o bruta, proteína total o bruta, cenizas, fibra bruta y carbohidratos. El término bruta, o cruda, hace referencia a sustancias próximas, y no compuestos individuales. Desde 1886 hasta el día de hoy, este método es ampliamente utilizado [33].

Se denomina análisis proximal al conjunto de métodos de determinación que describen la composición nutritiva de una sustancia alimenticia. Cada prueba tiene como objetivo

describir los nutrientes que posee un alimento con la determinación de un grupo de sustancias con características específicas [34].

Debido a las variaciones de composiciones que puede contener una misma muestra, específicamente de alimentos, los resultados analíticos proximales pueden cambiar significativamente; por ejemplo, en frutas y vegetales, el contenido de azúcares, ácidos y agua, pueden variar dependiendo de la cantidad de luz durante el crecimiento, así como del clima, suelo y el estado de maduración del mismo [35].

### **1.8. Procesos de extracción de pigmentos naturales**

La extracción se basa en la separación de porciones biológicamente activas, utilizando un solvente y un proceso de extracción adecuado; generalmente es usado al separar compuestos orgánicos de soluciones, con el fin de retirarlos de sus fuentes de origen; en general, puede definirse como una operación de separación de un componente de una mezcla por medio de un disolvente [36].

Mediante una revisión bibliográfica, se determinan los diferentes métodos de extracción tanto convencionales como no convencionales que se han venido estudiando a lo largo de los años. Los métodos de extracción no convencionales como la extracción asistida por ultrasonido y microondas han sido muy utilizados últimamente como alternativas verdes, además de ellos, el método de extracción Soxhlet continúa siendo el método más usado para extracción de diferentes compuestos, siendo un método de referencia para el estudio comparativo de diferentes procesos. A continuación, se presentan en la tabla 6, algunas de las principales ventajas y desventajas de los métodos mencionados.

**Tabla 6.**  
Comparación bibliográfica de algunos métodos de extracción.

MÉTODO	VENTAJAS	DESVENTAJAS	REFERENCIA
<i>Extracción asistida por microondas</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Método sencillo</li> <li>Requiere tiempos de extracción cortos.</li> <li>Requiere menores cantidades de disolvente.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Puede provocar degradación térmica e isomerización de carotenoides y otros compuestos.</li> <li>En recipientes cerrados, puede haber riesgo de explosión por altas presiones generadas.</li> <li>Es recomendable el uso de solventes polares.</li> </ul>	<p>(Cheng et al., 2020)</p> <p>(Mandal et al., 2015)</p>
<i>Extracción asistida por ultrasonido</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Tiempos de extracción cortos</li> <li>Altos rendimientos.</li> <li>Equipos económicos.</li> <li>Funcionamiento sencillo.</li> <li>Puede ser utilizado con cualquier disolvente.</li> <li>La cavitación aumenta la polaridad del sistema, mejorando la eficiencia.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>El envejecimiento de la superficie de la sonda de ultrasonido puede variar la eficiencia de extracción.</li> <li>Mayores costos energéticos.</li> <li>El disolvente no puede renovarse durante el proceso discontinuo, por lo que la eficiencia depende del coeficiente de partición.</li> </ul>	<p>(Cheng et al., 2020)</p> <p>(Mandal et al., 2015)</p>
<i>Extracción convencional Soxhlet</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Altos rendimientos.</li> <li>Equipos simples y económicos.</li> <li>Altos porcentajes de recuperación de solvente.</li> <li>No es necesaria una filtración posterior.</li> <li>Desplazamiento del equilibrio de transferencia de masa al poner repetidas veces el solvente fresco en contacto con la matriz sólida.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Tiempos prolongados de extracción.</li> <li>Volúmenes grandes de disolvente.</li> <li>No es posible proporcionar agitación durante el proceso.</li> </ul>	<p>(Cheng et al., 2020)</p> <p>(Mandal et al., 2015)</p>

**Nota.** La tabla muestra una breve comparación de ventajas y desventajas entre tres métodos de extracción.

### 1.8.1. Extracción convencional Soxhlet

El método de extracción Soxhlet hace parte del grupo de técnicas de extracción convencionales basándose en la separación de los compuestos de interés de la matriz de origen mediante un solvente, generalmente orgánico, que disuelve los compuestos

solubles, es por ello que el solvente seleccionado para el proceso debe ser afín con el compuesto objetivo, además de otros factores a tener en cuenta.

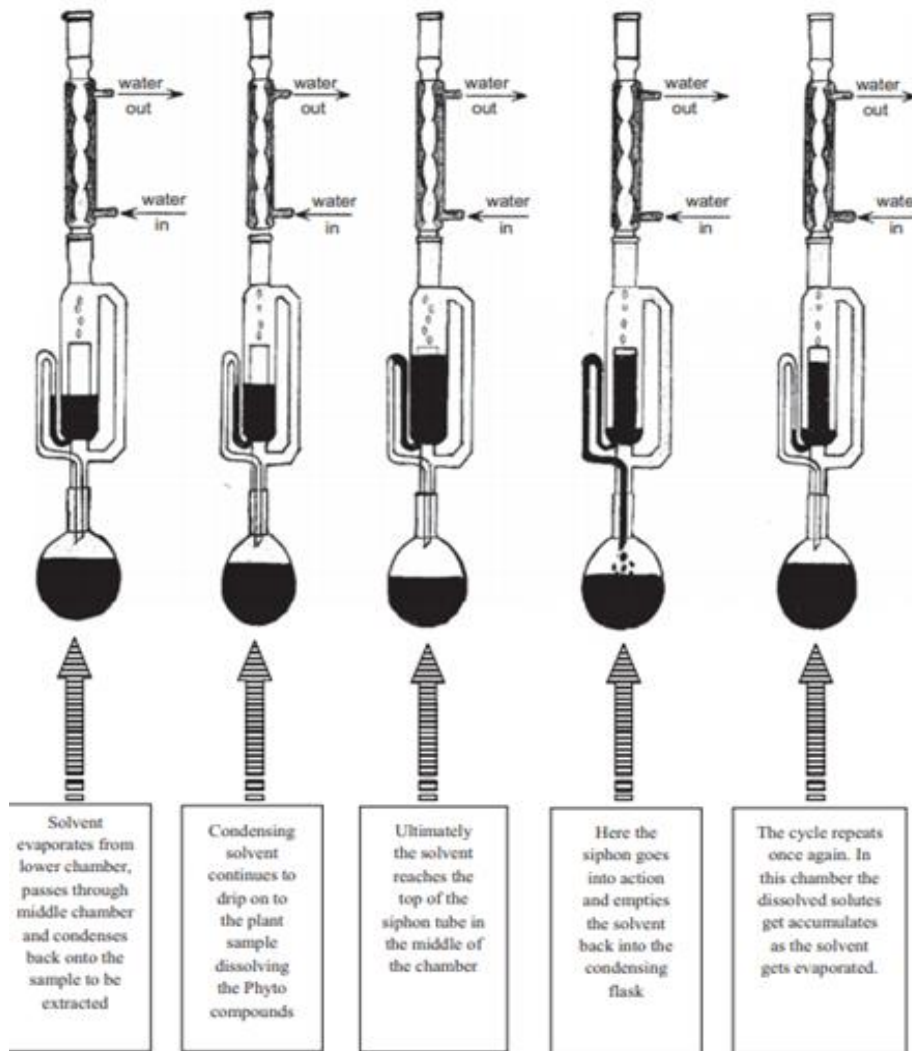
El montaje puede observarse en la figura 6, el cual consta principalmente de un balón de vidrio que contiene el solvente; una cámara de extracción acoplada sobre el matraz junto a un condensador de vidrio de flujo continuo; generalmente el sistema de refrigeración para el proceso de condensación se realiza con agua fría.

El principio fundamental se basa en el flujo constante del disolvente puro dentro del montaje a causa de su ebullición y su posterior condensación; el solvente condensado gotea sobre la muestra, que se encuentra contenida dentro de un cartucho de celulosa o papel filtro dentro de la cámara, así, cuando suficiente solvente se ha condensado, este junto con el extracto pasan a través de un sifón en forma de U y son depositados nuevamente en el balón de ebullición para iniciar el proceso; el cual se repite las veces necesarias [34].

Esta técnica se ha utilizado durante mucho tiempo, por ser una técnica estándar; en sí, es el estándar principal para evaluar el rendimiento de otros métodos de extracción sólido-líquido, incluido el ultrasonido y la extracción por microondas [37], dado que sobrepasa en eficiencia a otros métodos convencionales y algunos no convencionales; cabe aclarar que, la eficiencia y el rendimiento dependen también de diversas variables del proceso tales como la temperatura, el solvente seleccionado respecto a los compuestos de interés a extraer, el porcentaje de pureza del solvente, la relación volumen – peso del solvente y la muestra y/o el tamaño de partícula de la misma.

En cuanto a la extracción de carotenoides, Soxhlet es una de las técnicas convencionales utilizadas; utiliza solventes en sus temperaturas de ebullición y baja presión para extraer selectivamente los compuestos objetivo [32]. Para muestras, como subproductos procesados de uva, las técnicas más adecuadas son la maceración y la extracción Soxhlet [38].

**Figura 6.**  
*Diagrama esquemático que muestra la técnica de extracción Soxhlet.*



**Nota.** La figura describe el proceso de extracción por el método soxhlet. Tomado de: S. C. Mandal, V. Mandal, and A. K. Das, *Classification of Extraction Methods*. 2015.

1.8.1.a. Variables en la extracción Soxhlet. Las variables dentro del proceso de extracción pueden ser críticas, dado que inciden en el rendimiento y eficacia del proceso. La elección del solvente es un factor clave en la extracción del compuesto bioactivo usando el método soxhlet, se debe tener en cuenta factores como su temperatura de ebullición, que el disolvente no reaccione químicamente con el extracto, seguro, no ser corrosivo, de bajo costo, presión de vapor baja y de fácil separación respecto al extracto [37]. Uno de los disolventes mayormente usados es el metanol, sin embargo, ha sido

restringido para fines alimenticios [16]. Generalmente, los disolventes más utilizados para extraer materiales aceitosos o grasos de matrices vegetales son los disolventes menos polares, aun así, se ha visto que el metanol, el etanol y el agua exhiben propiedades de solubilidad similares ya que contienen un grupo hidroxilo que es de naturaleza hidrófila [37]; el etanol y la acetona son los dos disolventes preferidos para la aplicación alimentaria sobre otros disolventes comunes utilizados para extraer carotenoides como el hexano, el éter dietílico y el diclorometano [32], asimismo, para las antocianinas, al ser solubles en compuestos polares. La principal ventaja del etanol, un solvente común para la extracción de polifenoles, en comparación con otros solventes orgánicos, es de hecho que es seguro para el consumo humano y, en consecuencia, permite su uso en las industrias alimentaria, cosmética y farmacéutica [38]; de igual forma, la concentración del solvente puede considerarse como parámetro o variable del proceso, dado que de ésta depende en gran parte, el desprendimiento del colorante de la materia prima [39]. Asimismo, una variable importante para llevar a cabo la extracción de colorantes es la relación de solvente-sólido, dado que se debe garantizar un volumen suficiente de solvente para que se cubra toda la matriz o cáscara de fruta durante el proceso de extracción [37]. Ahora bien, la temperatura es un factor importante, en general, ésta se debe encontrar entre 50 y 100 °C, ya que, a pesar que a mayores temperaturas ocurre una mayor velocidad de extracción, al sobrepasar los 100 °C ocurre la disolución de la celulosa presente en la cáscara de algunas frutas, así como la posible degradación del colorante [39]; se ha encontrado que la temperatura para los colorantes naturales no debe ser superior a 70-75 °C [39]. En última instancia, se puede considerar el tiempo de extracción, desde el instante en que el solvente entra en contacto con la materia prima hasta que no se presenten cambios notables durante los últimos 30 minutos [39].



## **2. CARACTERIZACIÓN DE LA MUESTRA**

Para el desarrollo del primer objetivo, “Caracterizar el hollejo de uva y la cáscara de mandarina mediante un análisis bromatológico proximal.”, se recolectó la materia prima a la cual se le realizó un análisis de tipo preliminar, no a detalle, para la posterior selección y análisis junto con los procedimientos de muestreo, acondicionamiento y tratamiento de las muestras. Cabe resaltar que, las pruebas de análisis proximal se realizaron por duplicado para cada materia prima, presentando el promedio de los resultados obtenidos.

### **2.1. Acondicionamiento de la materia prima**

Previo al proceso experimental de las materias primas se debe llevar a cabo un muestreo inicial, verificando las condiciones de estas por ser alimentos perecederos; por lo tanto, se deben identificar algunos parámetros a tener en cuenta para que el proceso no se vea afectado. Se deben almacenar en bolsas herméticas a una temperatura de 2 °C a 4 °C para evitar la degradación de los compuestos, teniendo en cuenta que, la temperatura es un factor que afecta la estabilidad de los compuestos de interés. Las muestras fueron almacenadas durante un lapso de 7 días.

#### **2.1.1. Proceso de selección**

Las materias primas se recolectaron del mercado mayorista Corabastos, siendo un muestreo aleatorio, de forma manual, quitando ramas u hojas y verificando el estado de maduración y condiciones físicas, escogiendo aquellas que no presenten deterioro, picaduras y golpes. Como se mencionó anteriormente, para el presente trabajo se realizó la recolección de las materias primas en el mercado mayorista, no obstante, los residuos podrían obtenerse por parte de empresas procesadoras de estas frutas, ya sean productoras de zumos o industrias vinícolas para la cáscara de mandarina y uva respectivamente.

Para el caso de la mandarina, el tamaño final y las características del fruto están determinados por factores exógenos y endógenos; el proceso de maduración se da entre

seis a doce meses, en esta etapa, el color de la epidermis cambia y se torna a amarillo-naranja, la acidez disminuye y aumentan los azúcares [11].

Por otro lado, la etapa de maduración fisiológica de la uva se ve reflejada en la etapa denominada envero, esta tiene una duración de 20 a 50 días dependiendo del punto de cosecha y los niveles de acidez y azúcar deseados [40], durante el proceso de maduración se incrementan la formación de las antocianinas, donde los granos de la uva cambian su color verde a un rojo-negro para el caso de las uvas tintas [40]. En la figura 7 y 8 se muestra la mandarina y uva recolectada respectivamente.

**Figura 7.**

*Muestreo de la mandarina como materia prima.*



**Nota.** La figura muestra las mandarinas variedad Arrayana seleccionadas para el proyecto.

**Figura 8.**

*Muestreo de la uva como materia prima.*



**Nota.** La figura muestra las uvas Isabelinas seleccionadas para el proyecto.

### **2.1.2. Preparación de la muestra inicial**

Una vez identificadas y seleccionadas las materias primas en las mejores condiciones, son lavadas con agua de grifo y con agua destilada, para eliminar insectos, polvo y otras sustancias que pueda contener. Los hollejos de uva y las cáscaras de mandarina se disminuyen de tamaño, teniendo en cuenta la ley de Fick, que menciona que a mayor grado de división de la muestra, mayor es la superficie de contacto y asimismo, mayor será la difusión a través de la membrana porosa [41].

## **2.2. Análisis proximal**

Es importante, desde el estudio de la ciencia alimentaria, tener un conocimiento básico del estado físico y de los componentes químicos que constituyen las materias primas a analizar, ya que pueden influir en sus características, estabilidad y calidad, tomando en consideración que dichas materias primas son cambiantes de forma rápida y permanente y que sus condiciones pueden variar dependiendo de factores externos. Entre los análisis proximales a realizar, se tienen en consideración aquellos que describen la composición nutritiva de la sustancia; además se siguieron los métodos generales de análisis para evitar mayores errores de experimentación.

### **2.2.1. Contenido de humedad**

Los métodos de secado son los más comunes para determinar el contenido de humedad de los alimentos, estos métodos calculan el porcentaje de agua por la pérdida de peso durante el calentamiento. La medición del contenido de humedad de las materias primas se establece en base al método de estufa al aire de acuerdo con la norma AOAC 934.01 (2005), siguiendo la metodología descrita por Ramírez [33], tal como se observa en la figura 9.

**Figura 9.**  
*Determinación del contenido de humedad por secado.*



**Nota.** La figura muestra el residuo obtenido de la cáscara de mandarina y uva luego del proceso de secado para la determinación de humedad.

Para determinar el contenido de humedad de la muestra, se hace uso de la ecuación 1, relacionando los pesos de la muestra fresca y la muestra libre de humedad.

**Ecuación 1.** 
$$\%Humedad = \frac{W_1 - W_2}{W_1} * 100$$

Donde:

$W_1$  = Peso de la muestra húmeda (g)

$W_2$  = Peso de la muestra seca (g)

**Tabla 7.**  
*Contenido de humedad de las muestras.*

Muestra	Peso residuo fresco (g)	Peso residuo seco (g)	% Humedad
Mandarina	5.0683	1.1247	77.81
Uva	4.9486	0.9054	81.70

**Nota.** La tabla describe los pesos de las muestras antes y después del proceso de secado para la determinación del porcentaje de humedad.

La determinación del porcentaje de humedad define el contenido de agua presente en las cáscaras de mandarina y uva analizadas, el cual permite conocer la proporción de los nutrientes que se encuentran presentes en cada materia prima [42] ; asimismo, es un indicador de la estabilidad de los alimentos. Este valor es indispensable en el análisis previo a un proceso de transformación de las materias primas, especialmente si su fin es la industria de alimentos, dado que, un contenido de humedad elevado se relaciona con

una fácil y rápida degradación del alimento debido al crecimiento de hongos [33], por lo tanto, se relaciona directamente con la calidad del mismo y facilita la determinación de las condiciones de almacenamiento.

El porcentaje de humedad de las materias primas se registra en la tabla 7, donde se obtuvo un resultado para la cáscara de mandarina de 77.81%; siendo un resultado superior en comparación a lo reportado por Gutiérrez & Pascual [43] y Gutiérrez [44], quienes obtuvieron un porcentaje de humedad de 12.57%, asimismo, Díaz [12] reporta un valor de 10.92%  $\pm$  0.64; sin embargo, se obtiene un valor inferior al reportado por Ramos *et al.* [45], quienes obtuvieron un contenido de humedad del 86.8%. El resultado del contenido de humedad para la cáscara de mandarina supera los valores mencionados anteriormente por otros autores, por ende, este valor se corroboró realizando por triplicado el ensayo.

Por otro lado, se registra un resultado para la cáscara de uva de 81.70%, cuyo valor se aproxima a los rangos reportados por Llamuca [3], quien obtuvo un resultado experimental de 78.89% y Mojica & Pérez [8] quienes tras 10 réplicas reportan un contenido de humedad de 80.14% para los orujos de uva; sin embargo, Soto *et al.* [46] obtienen un porcentaje de humedad que no excede el 40% para el orujo de uva variedad Malvasía; donde se puede observar que el contenido de humedad del hollejo, o cáscara de uva, así como de la cáscara de mandarina pueden verse afectados dependiendo de la variedad estudiada, el estado de madurez en el que es recolectado, condiciones climáticas y de almacenamiento.

### **2.2.2. Contenido de cenizas totales**

El contenido de cenizas totales de las muestras, se realizó por medio de la técnica de análisis gravimétrico por incineración, de acuerdo al método AOAC 923.03 (2019), siguiendo la metodología descrita por Peralta, Maldonado y Centeno [47].

**Figura 10.**  
*Determinación del contenido de cenizas por incineración.*



**Nota.** La figura muestra el residuo obtenido de la cáscara de mandarina y uva luego de tres horas del proceso de incineración para la determinación de cenizas totales.

El porcentaje de cenizas se determinó con base en la ecuación 2, relacionando el peso de la materia prima fresca y el peso de sus cenizas luego de la calcinación a 550 °C.

**Ecuación 2.** 
$$\%Cenizas = \frac{C_2 - C_0}{C_1} * 100$$

Donde:

C<sub>0</sub> = Peso del crisol vacío previamente tarado (g)

C<sub>1</sub> = Peso de la muestra (g)

C<sub>2</sub> = Peso del crisol y las cenizas (g)

**Tabla 8.**  
*Contenido de cenizas de las muestras.*

Muestra	Peso residuo fresco (g)	Peso cenizas (g)	% Cenizas
Mandarina	4.9952	0.1000	2.00
Uva	5.0116	0.0112	0.22

**Nota.** La tabla describe los pesos de las muestras y de las cenizas después del proceso de incineración para la determinación del porcentaje de cenizas.

En general, las cenizas se componen de carbonatos originados de la materia orgánica y no propiamente de la muestra [35]. Determinar el contenido de cenizas representa un análisis próximo respecto a la cantidad de minerales que contienen las materias primas analizadas, y ayuda para una posterior evaluación nutricional del alimento si se requiere

[47]. La mayoría de las cenizas están en las cáscaras y se puede esperar que su contenido sea variable, sin embargo, cuando hay un alto contenido de cenizas se sugiere la presencia de un adulterante inorgánico [46].

El contenido de cenizas totales de las materias primas se registra en la tabla 8, donde se observa un resultado para la mandarina de 2.00%, el cual, se encuentra cercano a los valores reportados por Díaz [12] con un valor de 3.27% +- 0.33, Gutiérrez & Pascual [43] y Gutiérrez [44], con un valor de 2.73%; asimismo, se obtuvo para la cáscara de uva 0.22% de cenizas totales que, al compararlas con los resultados obtenidos por Mojica & Pérez [8] con un valor reportado de 1.26% +- 0.07 y Llamuca [3] quien obtuvo 0.27% de cenizas para el hollejo, se pueden observar valores similares. El contenido de cenizas es un indicativo de los residuos inorgánicos que permanecen luego de la calcinación de la materia orgánica, dicho contenido puede variar por el origen del alimento y su valor puede verse afectado debido a pérdidas por volatilización [48], efectivamente, los porcentajes menores a 5% descarta la posibilidad de que se encuentre presente algún adulterante inorgánico en las materias primas.

### **2.2.3. Contenido de proteínas totales**

El contenido total de proteínas en los alimentos constituye una mezcla compleja de proteínas, en una combinación con carbohidratos o lípidos, que pueden ser físicos o químicos. Para la cuantificación de proteínas de las materias primas, se siguió el método AOAC 2001.11 (2019) con la técnica de referencia Kjeldahl de acuerdo al procedimiento descrito por Serna y López [35], la cual fue realizada por los laboratorios especializados en análisis de aguas y alimentos de Biopolab.

**Tabla 9.**  
*Contenido de proteína de las muestras.*

<b>Muestra</b>	<b>Proteína cruda (g / 100 g)</b>
<b>Mandarina</b>	0.8800
<b>Uva</b>	0.8400

**Nota.** La tabla describe los resultados de los análisis realizados por el laboratorio BIOPOLAB para la determinación del contenido de proteína cruda de las muestras.

El contenido total de proteínas en los alimentos se compone por una mezcla de carbohidratos o lípidos. El procedimiento que se siguió, el método Kjeldahl, determina la materia nitrogenada total, conformada tanto por las no proteínas como por las proteínas verdaderas [47], aun así, como el nitrógeno se encuentra en un porcentaje relativamente constante en los alimentos, este valor sugiere la medida del contenido proteico de las sustancias analizadas [42].

De acuerdo a lo expresado en la tabla 9, se obtiene un valor de 0.88 g / 100 g de proteínas para la cáscara de mandarina, cuyo valor es menor al reportado por Gutiérrez & Pascual [43] con 3.47% por 100 gramos de producto, al igual que con el valor reportado por Gutiérrez [44] con 8.14 g / 100 g de material seco y por Díaz [12] con 8.12 g.

Por otra parte, se obtuvo un valor de 0.84 g / 100g de proteínas para la cáscara de uva, siendo un valor cercano a lo expuesto por Llamuca [3] con un valor de 0.23% y con los resultados obtenidos por Mojica & Pérez [8], quienes reportan un promedio de 1.11% de proteínas para el hollejo de uva; sin embargo, el contenido de proteínas obtenido es menor al registrado por Soto *et al.*[46] con 10.75% para la variedad Malvasía y Mieres *et al.* [49] con 10.44% para el hollejo de uva de variedad criolla negra.

En la comparación bibliográfica, la mandarina tuvo menor cantidad respecto a los valores de referencia, lo cual puede atribuirse a la diferencia de variedad, época de cultivo, o hasta la calidad de los reactivos usados en el proceso [12]; por el contrario, los gramos de la uva se asemejan a los valores de referencia, su poca cantidad puede atribuirse a que su composición es rica en azúcares y polifenoles más no en proteínas que deben incluir en la dieta del ser humano [3].

#### **2.2.4. Contenido de grasa bruta**

El método de extracción Soxhlet con disolventes orgánicos es usado como método de cuantificación de lípidos/grasas. Para el procedimiento se siguió la técnica de extracción con éter de petróleo de acuerdo al método AOAC 920.39 (2005), con el procedimiento descrito por Ramírez [33], el cual se puede observar en la figura 11.



**Figura 11.**  
*Montaje para la determinación de grasa bruta.*



**Nota.** La figura muestra el montaje Soxhlet realizado para la extracción y determinación de grasa bruta.

El contenido de grasa bruta se calculó por medio de la ecuación 3, luego del proceso de extracción y recuperación del solvente.

**Ecuación 3.** 
$$\%Grasa = \frac{W_3 - W_2}{W_1} * 100$$

Donde:

$W_1$  = Peso de la muestra (g)

$W_2$  = Peso del balón vacío previamente tarado (g)

$W_3$  = Peso del balón y la grasa luego de la extracción y el secado (g)

**Tabla 10.**  
*Contenido de grasa bruta en las muestras.*

<b>Muestra</b>	<b>Peso residuo seco (g)</b>	<b>Peso grasa seca (g)</b>	<b>% Extracto etéreo</b>
<b>Mandarina</b>	5.0573	0.2002	3.96
<b>Uva</b>	5.0094	0.1439	2.87

**Nota.** La tabla describe los pesos de las muestras y de la grasa después del proceso de extracción para la determinación del porcentaje de extracto etéreo.

«El análisis se denomina grasa bruta, cruda o extracto etéreo y se refiere al conjunto de ésteres de ácidos grasos como el glicerol, fosfolípidos, lecitinas, esteroides, ceras, ácidos grasos libres y carotenoides» [33].

El contenido de grasa bruta para las materias primas se observa en la tabla 10, donde se registra un resultado de 3.96% para la cáscara de mandarina, siendo un valor superior al reportado por Gutiérrez & Pascual [43] y Gutiérrez [44], quienes reportan un valor de 2.14%±0.03; igualmente, se obtuvo un valor de 2.87% para la cáscara de uva, este valor puede encontrarse dentro de los valores reportados por Soto *et al.* [46] con 7.16% para la variedad Malvasía y Mieres *et al.* [49] con 4.43%; así, para las diferentes variedades de uva el contenido puede variar debido a la diferencia de tamaño de las vacuolas que contienen la grasa [46], asimismo, la cáscara presenta bajos contenidos de grasa, debido a que, generalmente es en la semilla donde se encuentra la mayor cantidad [49]. En general, el contenido de grasa obtenido puede afectarse dependiendo de la naturaleza de las materias primas, como de su variedad y factores agronómicos de cultivo.

#### **2.2.5. Contenido de fibra cruda**

El método empleado para la determinación del contenido de fibra cruda consistió en efectuar dos digestiones primeramente con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> seguido de NaOH, siguiendo la metodología propuesta por Peralta, Maldonado y Centeno [47]. En la figura 12 y 13 se ilustra parte del proceso realizado.

**Figura 12.**  
*Montaje para la determinación de fibra cruda.*



**Nota.** La figura muestra el montaje realizado para el proceso de reflujo de las muestras con  $H_2SO_4$  y  $NaOH$ .

**Figura 13.**  
*Filtración para la determinación de fibra cruda.*



**Nota.** La figura muestra el montaje realizado para el proceso de filtración al vacío.

**Ecuación 4.**  $\%Fibra\ cruda = \frac{W_1 - W_2}{W_0} * 100$

Donde:

$W_0$  = Peso de la muestra (g)

$W_1$  = Peso de las fibras más las cenizas, luego de la estufa. (g)

$W_2$  = Peso de las cenizas, luego de la mufla y el desecador (g)

**Tabla 11.**  
*Contenido de fibra cruda en las muestras.*

<b>Muestra</b>	<b>Peso residuo fresco (g)</b>	<b>Peso fibra y cenizas (g)</b>	<b>Peso cenizas (g)</b>
<b>Mandarina</b>	0.8493	0.1023	0.0120
<b>Uva</b>	0.9500	0.1976	0.0088

*(continuación)*

<b>Muestra</b>	<b>% Fibra cruda</b>	<b>% Fibra BS<sup>1</sup></b>	<b>% Fibra BH<sup>2</sup></b>
<b>Mandarina</b>	10.63	10.21	2.27
<b>Uva</b>	19.87	19.30	3.53

**Nota.** La tabla describe los pesos de las muestras y de las cenizas después de los procesos de digestión para la determinación del porcentaje de fibra cruda y fibra en base seca<sup>1</sup> y base húmeda<sup>2</sup>.

La fibra cruda se refiere a la parte orgánica del alimento, compuesta principalmente por celulosa, lignina, hemicelulosa y pentosanas, que se encuentran en los tejidos vegetales [33]. Para la mandarina, se obtuvo un porcentaje de fibra cruda de 10.63%, siendo un valor similar al reportado por Gutiérrez [44], el cual obtiene un valor de 16.63% +- 0.08 de fibra cruda en base seca, al igual que los datos reportados por Gutiérrez *et al.* [50] cuyo valor de fibra cruda es de 15.6%; siendo a su vez un contenido menor al valor señalado por Gutiérrez & Pascual [43] de fibra dietaria total con un 43.84%, dado que este incluye todos los componentes sean fibrosos o no.

Para la cáscara de uva, se registró un valor de 19.87%, el cual, es un valor cercano al registrado por Soto *et al.* [46] con 18.36%+-0.71; asimismo, se reporta un valor similar, aunque inferior al obtenido por Mieres *et al.* [49] con 25.12%+-0.01. El alto contenido de fibra sugiere que la cascarilla del orujo de uva puede ser utilizada como fuente de fibra para el consumo humano [49].

### **2.2.6. Determinación de carbohidratos**

La determinación de carbohidratos consiste en el método diferencial que aplica la ecuación 5, con base en los resultados obtenidos de las pruebas de caracterización proximal, siguiendo el método AOAC 986.25.

**Ecuación 5.**  $\% \text{Carbohidratos} = 100 - \% \text{H} - \% \text{Proteína} - \% \text{Ceniza} - \% \text{Extracto etéreo}$

**Tabla 12.**  
*Contenido de carbohidratos de las muestras.*

<b>Muestra</b>	<b>% Carbohidratos</b>
<b>Mandarina</b>	15.35
<b>Uva</b>	14.36

**Nota.** La tabla describe los resultados de los análisis realizados para la determinación del contenido de carbohidratos totales.

El contenido total de carbohidratos hace referencia a un gran número de compuestos que van desde los azúcares simples mono y disacáridos como la glucosa y la sacarosa, hasta los más complejos como el almidón y la celulosa [47]. Asimismo, su estructura química determina características que pueden influir en el sabor, viscosidad, estructura y color de los alimentos [48].

En la tabla 12 se reportan los resultados obtenidos referente al contenido de carbohidratos de las muestras, registrando un 15.35% para la mandarina, cuyo valor es inferior al reportado por Gutiérrez [44] con un valor de 78.30%, sin embargo, es superior a lo reportado por Ramos *et al.* [45] con un valor de 8.34%. Asimismo, para la cáscara de uva se registró un valor de 14.36%, que al ser comparado con lo reportado por Soto *et al.* [46] con un valor de 34.33% es inferior. Los carbohidratos son calculados por diferencia, razón por la cual los datos pueden ser completamente variables a los reportados por la bibliografía por las diferencias existentes entre valores como los porcentajes de humedad [49].

### 3. EXTRACCIÓN

Para el segundo objetivo, “Establecer las condiciones del proceso de extracción de colorantes naturales a partir del hollejo de uva (*Vitis vinifera* 'Cabernet Sauvignon') y la cáscara de mandarina (*Citrus reticulata*) a escala laboratorio.”, se realizó la extracción de carotenoides y antocianinas de la cáscara de mandarina y el hollejo de uva respectivamente, mediante la técnica Soxhlet, seleccionando previamente los rangos de las condiciones recomendadas del proceso mediante una búsqueda bibliográfica.

#### 3.1. Secado de la materia prima

Esta alternativa resulta ser muy útil, ya que, al ser secada, disminuye el contenido de humedad de la muestra, reduciendo la probabilidad de aparición de actividad microbiana en ella; además, «al reducir la actividad del agua se concentran los antioxidantes y se protegen los carotenoides, a actividades de agua intermedias se ejerce un efecto protector» [51].

Para el proceso de secado se tomaron 20 g de ambas materias primas y se situaron en una bandeja con papel absorbente; este proceso se lleva a cabo en una mufla con una temperatura de 40 °C durante 24 horas, esto con el fin de evitar la degradación de antocianinas y carotenoides al ser compuestos termosensibles, de acuerdo con lo descrito por Otálora [34]. De hecho, un estudio realizado por Zapata [52], demuestra la sensibilidad de las antocianinas, a altas temperaturas al someter los extractos a un tiempo de calentamiento de 24 H; como se observa en la tabla 13 donde el porcentaje de degradación es mayor a medida que se incrementa la temperatura.

**Tabla 13.**

*Porcentaje de degradación de antocianinas durante el proceso de secado.*

Temperatura (°C)	Degradación (%)	
	ESL	EF
55	28	67
65	54	78
75	79	92
85	87	95

**Nota.** La tabla describe el porcentaje de degradación de antocianinas al ser sometidos a un proceso de secado durante 24 horas para el extracto de antocianinas obtenidos por extracción sólido - líquido (ESL) y por fermentación (EF) a partir de arándanos. Tomado de: L. M. Zapata, "Obtención de extracto de Antocianinas a partir de arándanos para ser utilizado como antioxidante y colorante en la industria alimentaria," *Univ. Politécnica Val.*, pp. 1–248, 2014, [Online]. Available:

[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%203%20Tesis%20Luz%20Marina%20Zapata.pdf%281%29.PDF?sequence=21).

**Figura 14.**

*Muestra de mandarina seca.*



**Nota.** En la figura se observa la muestra de mandarina después del secado en mufla.

**Figura 15.**

*Muestra de uva seca.*



**Nota.** En la figura se observa la muestra de uva después del secado en mufla.

Pasadas las 24 horas, se determinó el porcentaje de humedad presente en las materias primas de acuerdo a la ecuación 1, como se observa en la tabla 14, donde para la cáscara de mandarina se obtuvieron valores cercanos respecto al porcentaje de humedad obtenido para el análisis bromatológico; sin embargo, para la cáscara de uva se obtuvo menor cantidad de agua comparada con la tabla 7, dado que, se retiró la mayor cantidad de pulpa posible que pudiera aún tener la cáscara previo al secado en horno. Posterior a ello, se trituraron las muestras secas en un procesador de alimentos con el fin de disminuir lo máximo posible el tamaño de partícula previo al proceso de extracción, no obstante, se optó por dejar enteras las cáscaras de uva, con el fin de evitar pérdidas; finalmente, las muestras fueron empacadas en bolsas herméticas hasta su posterior uso.

**Tabla 14.**

*Porcentaje de humedad de las muestras previo a la extracción.*

<b>Muestra</b>	<b>Peso residuo fresco (g)</b>	<b>Peso residuo seco (g)</b>	<b>% Humedad</b>
<b>Mandarina<sup>1</sup></b>	40.3245	9.6770	76.00
<b>Mandarina<sup>2</sup></b>	70.1142	19.1848	72.64
<b>Uva<sup>1</sup></b>	40.6087	15.3051	62.31
<b>Uva<sup>2</sup></b>	91.6306	37.9568	58.58

**Nota.** La tabla describe los pesos de las muestras antes y después del proceso de secado para la determinación del porcentaje de humedad previo a la trituración y proceso de extracción.

<sup>1</sup>Determinación de humedad para la primera extracción.

<sup>2</sup>Determinación de humedad para el duplicado de la extracción.

### **3.2. Extracción Soxhlet**

De acuerdo a una recopilación bibliográfica realizada, es posible establecer los rangos de condiciones que se pueden adoptar en el desarrollo experimental del proyecto durante la extracción de colorantes. En la tabla 15 se describen algunos de los estudios realizados por otros autores, similares al proyecto, sintetizando los parámetros utilizados y sus respectivos resultados.



**Tabla 15.**

*Revisión bibliográfica de los parámetros de extracción Soxhlet.*

<b>Matriz</b>	<b>Producto de interés</b>	<b>Condiciones</b>		<b>Resultados</b>	<b>Cita</b>
<b>Hollejo de uva</b>	Antocianinas	Temperatura	60 °C – 70 °C	61.87 mg 3-cianidin glucósido / L	[3]
		Tiempo	400 min		
		Solvente	Etanol 90% y AC* 0.03%		
		Relación S/MP*	50 g / 400 mL		
<b>Agraz</b>	Antocianinas y flavonoles	Solvente	Etanol	3879.5 mg 3-cianidin glucósido / 100 g	[53]
		Relación S/MP	10 g / 150 mL		
<b>Residuo de mora de castilla</b>	Antocianinas	Temperatura	< 70 °C	1413.84 mg 3-cianidin glucósido / 100 g	[34]
		Tiempo	240 min		
		Solvente	Etanol 96%		
		Relación S/MP*	20 g / 300 mL		
<b>Hollejo de uva</b>	Polifenoles	Temperatura	78 °C	97.6 mg 3-cianidin glucósido / g	[8]
		Tiempo	240 min		
		Solvente	Etanol		
<b>Hollejo de uva</b>	Polifenoles	Temperatura	100 °C	20.6 mg 3-cianidin glucósido / g	
		Tiempo	240 min		
		Solvente	Agua		
<b>Sachapapa</b>	Antocianinas	Temperatura	60 - 70 °C	205.168 mg 3-cianidin glucósido / 100 g	
		Tiempo	210 min		
		Solvente	Alcohol 100%		
		Tamaño partícula	Malla 25		
		Relación S/MP	10 g / 200 mL		
<b>Sachapapa</b>	Antocianinas	Temperatura	60 - 70 °C	123.182 mg 3-cianidin glucósido / 100 g	[41]
		Tiempo	210 min		
		Solvente	Alcohol 50%		
		Tamaño partícula	Malla 25		
		Relación S/MP	10 g / 200 mL		
<b>Sachapapa</b>	Antocianinas	Temperatura	60 - 70 °C	197.237 mg 3-cianidin glucósido / 100 g	
		Tiempo	210 min		
		Solvente	Alcohol 100%		
		Tamaño partícula	Malla 50		
		Relación S/MP	10 g / 200 mL		

Tabla 15. Continuación

<b>Cáscara de mandarina</b>	Carotenoides	Solvente	Etanol 90%	53 mg bcaroteno / L	[12]
		Relación S/MP	50 g / 400 mL		
<b>Zanahoria</b>	Betacaroteno	Temperatura	68 °C	21.78 mg bcaroteno / 100 g	[34]
		Tiempo	360 min		
		Solvente	Hexano		
		Relación S/MP	20 g / 140 mL		
<b>Tomate</b>	Carotenoides	Temperatura	25 °C	6.1 mg bcaroteno / kg	[54]
		Tiempo	90 min		
		Solvente	Etanol		
<b>Tomate</b>	Carotenoides	Temperatura	70 °C	17.57 mg bcaroteno / kg	[54]
		Tiempo	90 min		
		Solvente	Etanol		
<b>Maracuyá</b>	Betacaroteno	Temperatura	74 °C	1037.99 µg bcaroteno / 100 g	[55]
		Tiempo	120 min		
		Solvente	Etanol 85%		
		Relación S/MP	50:1		

**Nota.** La tabla muestra una comparación bibliográfica de los parámetros de extracción utilizados por distintos autores.

\*S/MP: Relación solvente-materia prima.

\*AC: Ácido cítrico.

Diversos estudios demuestran el efecto que pueden tener los parámetros durante el proceso de extracción por el método Soxhlet, tales como la temperatura, el tiempo de extracción y el solvente utilizado. El aumento de la temperatura favorece la extracción, Strati y Oreopoulou [54] realizaron la extracción de carotenoides a partir de residuos del tomate, encontrando que, un aumento de la temperatura hasta 70 °C no causa alteraciones en la extracción de carotenoides, obteniendo mayor cantidad de carotenoides por kilogramo en comparación con una temperatura de 25 °C, asimismo, son usados grandes cantidades de solvente junto con tiempos de extracción mayores a tres horas. La mayoría de los investigadores utilizan valores relación 20:1 (v / w) para obtener altos rendimientos de extracción [56].

El montaje del proceso de extracción se observa en la figura 16 y 17, el cual se realizó con 10 g de cada materia prima previamente secadas y trituradas, posteriormente se colocaron cada una de las muestras en papel filtro cubriendo completamente la muestra dentro de la cámara extractora, igualmente en un balón de ebullición de 500 mL se adicionaron 200 mL de etanol al 96% para la primera extracción, el proceso de extracción se realizó durante 4 horas aproximadamente; asimismo se llevó a cabo una segunda extracción con 20 g de cada muestra y 400 mL de etanol al 96%; cabe destacar que, para la elección del etanol como solvente se tuvo en cuenta su naturaleza polar, su fácil acceso, costo y principalmente su seguridad para el consumo humano, permitiendo su uso en la industria de alimentos. Se estableció un rango de temperatura entre 60 y 70 °C, teniendo en cuenta que, la temperatura se limita con el fin de evitar reacciones de oxidación de los compuestos de interés presentes en las muestras, además de tener en cuenta la temperatura de ebullición del solvente seleccionado; verificando el tiempo de extracción hasta que no se observaran cambios notables.

**Tabla 16.**

*Selección de las condiciones del proceso de extracción.*

<b>VARIABLE</b>	<b>CONDICIÓN SELECCIONADA</b>
<b>Temperatura (°C)</b>	60 - 70
<b>Solvente</b>	Etanol
<b>Pureza del solvente (%)</b>	96
<b>Relación solvente – muestra (V / W)</b>	20:1

**Nota.** La tabla muestra las condiciones seleccionadas para el proceso de extracción mediante la técnica Soxhlet.

**Figura 16.**  
*Montaje Soxhlet para la extracción A.*



**Nota.** La figura muestra el montaje realizado para el proceso de extracción de colorante luego del primer reflujo.

**Figura 17.**  
*Montaje Soxhlet para la extracción B.*



**Nota.** La figura muestra el montaje realizado para el proceso de extracción de colorante luego del tercer reflujo.

### 3.3. Purificación del extracto

La técnica más utilizada para la purificación del extracto, se realiza por medio de un rotavaporador a condiciones determinadas, sin embargo, por falta de disponibilidad de equipos se realizó la separación del solvente por destilación simple controlando la temperatura para evitar la degradación del colorante y los compuestos de interés, así como se observa en la figura 18.

Finalmente, el extracto purificado se dejó enfriar y se almacenó en frascos ámbar esterilizados a una temperatura de 4 °C.

**Figura 18.**  
*Montaje para la purificación del extracto.*



**Nota.** La figura muestra el montaje realizado para el proceso de separación del solvente mediante destilación simple.

### 3.4. Rendimiento de la extracción

El rendimiento de la extracción se define como la relación entre la cantidad de extracto obtenido luego del proceso extractivo y la cantidad de materia usada para el proceso [34]; para determinar el rendimiento, se tienen en cuenta los cálculos reportados por Lucero y Muñoz [57], de acuerdo a las siguientes ecuaciones.

**Ecuación 6.**  $W_0 = \rho_{EX} * V$

**Ecuación 7.**  $\% \text{ Rendimiento} = \frac{W_0}{W_1}$

Donde:

$W_0$  = Peso del extracto seco (g)

$W_1$  = Peso de la muestra seca (g)

$V$  = Volumen del extracto después del proceso de separación (mL).

**Tabla 17.***Rendimiento de la primera extracción.*

<b>PRIMERA EXTRACCIÓN</b>	<b>Cáscara de mandarina</b>	<b>Cáscara de uva</b>
<b>Peso muestra seca (g)</b>	9.6770	9.9290
<b>Peso muestra seca luego de la extracción (g)</b>	14.5765	10.3896
<b>Masa del extracto seco (g)</b>	6.8888	6.3379
<b>Volumen del extracto separado (mL)</b>	8.2000	6.4000
<b>Volumen de etanol recuperado (mL)</b>	132	146
<b>Solvente recuperado (%)</b>	66	73
<b>Rendimiento (%)</b>	71.1875	63.8324

**Nota.** La tabla muestra el rendimiento de las extracciones de cada una de las materias primas de acuerdo al peso inicial de muestra seca y el extracto separado obtenido.

**Tabla 18.***Rendimiento de la segunda extracción.*

<b>SEGUNDA EXTRACCIÓN</b>	<b>Cáscara de mandarina</b>	<b>Cáscara de uva</b>
<b>Peso muestra seca (g)</b>	19.4800	20.0997
<b>Peso muestra seca luego de la extracción (g)</b>	31.5865	26.3603
<b>Masa del extracto seco (g)</b>	14.3870	11.9196
<b>Volumen del extracto separado (mL)</b>	16.7000	14.0000
<b>Volumen de etanol recuperado (mL)</b>	279	285
<b>Solvente recuperado (%)</b>	69.7500	71.25
<b>Rendimiento (%)</b>	73.8555	59.3024

**Nota.** La tabla muestra el rendimiento del duplicado de las extracciones de cada una de las materias primas de acuerdo al peso inicial de muestra seca y el extracto separado obtenido.

En la tabla 17 y 18 se presentan los resultados obtenidos para las extracciones realizadas con etanol al 96% mediante la técnica Soxhlet, obteniendo un rendimiento promedio de 72.52% para la cáscara de mandarina y 61.57% para el hollejo de uva; debido a las similitudes de los parámetros de extracción y sus resultados, es posible comparar ambas pruebas.

## 4. CARACTERIZACIÓN DE LOS COLORANTES OBTENIDOS

Para el tercer objetivo, “realizar la caracterización de los colorantes obtenidos a partir de pruebas fisicoquímicas y análisis microbiológico”, se llevó a cabo la cuantificación de las antocianinas y carotenoides de los colorantes obtenidos, además de pruebas fisicoquímicas y microbiológicas con el fin de determinar las condiciones higiénicas en las que se encuentra el extracto para evitar posteriores enfermedades dado su uso; finalmente, los colorantes se someten a pruebas de estabilidad en diferentes condiciones de luz, temperatura y pH. Todas las pruebas descritas, se realizaron por duplicado para cada extracto obtenido, con el fin de corroborar los resultados.

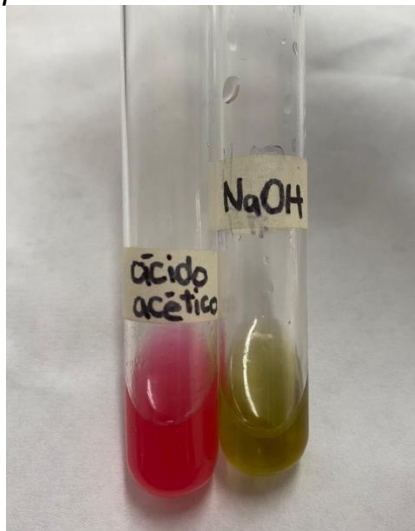
### 4.1. Cuantificación de antocianinas

#### 4.1.1. *Ensayo ácido-base*

En primera instancia se realiza un ensayo ácido base, con el fin de verificar la presencia de antocianinas en el extracto de hollejo de uva obtenido; este método se basa en la capacidad de las antocianinas de actuar como indicadores de pH, dado que, a condiciones ácidas estas cambian de color desde morado a rojo y hasta azul rojizo, sin embargo, a medida que aumenta el pH a básico puede variar entre verde y amarillo; para esta prueba, se siguió la metodología propuesta por Lucero y Muñoz [57] donde los colorantes se sometieron a una prueba de pH ácido con ácido acético glacial al 96% y a pH alcalino con hidróxido de sodio 2 N, para observar la presencia de antocianinas en el colorante obtenido como se muestra en la figura 19.

### **Figura 19.**

*Ensayo ácido base para la presencia de antocianinas.*



**Nota.** La figura muestra la presencia de antocianinas en el extracto de uva observadas a pH ácido y alcalino.

Se observó la presencia de antocianinas en el extracto obtenido del hollejo de uva por el ensayo ácido-base; debido a que, el cambio de tonalidad característico de las antocianinas a variaciones de pH es causado por la modificación de su estructura química donde, a condiciones ácidas se produce una reacción de metoxilación por la presencia del grupo metilo, por el contrario, a condiciones básicas se produce la reacción de hidroxilación por la presencia de grupos hidroxilos [57], lo que genera la coloración roja y verde, respectivamente, así como se demuestra en la figura 19.

#### **4.1.2. Espectrofotometría**

La determinación cuantitativa de antocianinas se realizó por medio de una espectrofotometría de luz ultravioleta visible en un espectrofotómetro Génesis 30 de acuerdo al método de pH diferencial, el cual se basa en la transformación estructural de las antocianinas con el cambio de pH [58]. Inicialmente se prepararon las muestras con soluciones buffer de cloruro de potasio ajustando el pH a 1 y solución de acetato de sodio a pH 4.5 según lo descrito por Lucero y Muñoz [57], el colorante se diluye con las soluciones buffer hasta tener un factor de dilución de 40 para luego realizar las lecturas



de absorbancia en un rango de longitud de onda establecido entre 500-700 nanómetros como se observa en la figura 20.

Para la cuantificación de antocianinas empleando el método de pH diferencial, se siguió la metodología descrita por [59], calculando el contenido de antocianinas monoméricas expresadas como cianidina-3-glucósido de acuerdo a la ecuación 8; asimismo, este procedimiento calcula la absorbancia total usando la ecuación 9, teniendo en cuenta la absorbancia máxima a 540 nm.

Por último, el contenido de antocianinas totales se determinó mediante la ecuación 10.

**Ecuación 8.** 
$$\text{Antocianinas monoméricas} = \frac{A * PM * FD * 1000}{\epsilon * L}$$

**Ecuación 9.** 
$$A = (A_{\lambda 540} - A_{700})_{pH1} - (A_{\lambda 540} - A_{700})_{pH4.5}$$

**Ecuación 10.** 
$$\text{Antocianinas totales} = \frac{(A_{\lambda 540} - A_{700})_{pH1} * PM * FD * 1000}{\epsilon * L}$$

Donde:

A: Absorbancia.

PM: Peso molecular de la molécula de referencia (449.6 g / L para la cianidina-3-glucósido)

FD: Factor de dilución.

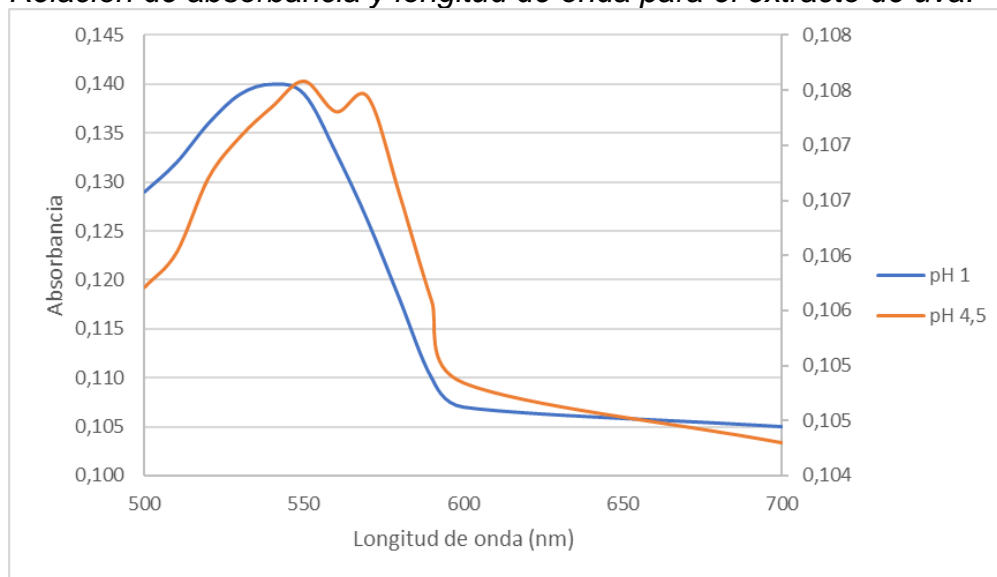
$\epsilon$ : Absortividad molar de la molécula de referencia (26900 para la cianidina-3-glucósido)

L: Grosor de la cubeta (1 cm)

En el Anexo C, se detallan las tablas con las lecturas de absorbancia a pH 1 y pH 4.5 para las extracciones a partir del hollejo de uva y en el Anexo E, se presenta una muestra para el cálculo de la cuantificación de antocianinas monoméricas y totales.

**Figura 20.**

*Relación de absorbancia y longitud de onda para el extracto de uva.*



**Nota.** La gráfica muestra la curva de absorbancia realizada por espectrofotometría como promedio de las extracciones de la cáscara de uva a pH1 y pH4.5.

**Tabla 19.**

*Promedio de antocianinas obtenidas del extracto de uva.*

EXTRACCIÓN HOLLEJO DE UVA	
FD	40
A. total	0.0317
Anto. monoméricas	21.2041 mg cianidina / 100 g
Anto. totales	23.3993 mg cianidina / 100 g

**Nota.** La tabla muestra el promedio de antocianinas monoméricas y totales obtenidos en la extracción de colorante del hollejo de uva.

Según lo anterior, en la figura 20 se muestran las lecturas de absorbancias promedio para el extracto de hollejo de uva a pH 1 en el eje principal y pH 4.5 en el eje secundario. Según Ortega y Guerra, citado por [3], el espectro de absorción exhibido por las antocianinas se encuentra en un rango entre 500-545 nm, debido a que diversas estructuras de las antocianinas se ven afectadas por los reactivos utilizados, en este caso el etanol, que específicamente afecta la posición 7 de la molécula flavona; de acuerdo con esto, es correcto afirmar que en el extracto se encuentra presente el grupo

antocianinas por las longitudes de onda obtenidas, estando dentro del rango establecido por bibliografía.

En relación con la tabla 19, se obtiene un promedio de 23.3993 mg de cianidina-3-glucósido / 100 g de materia seca, este valor depende significativamente de las condiciones de operación del proceso, los tratamientos previos a la extracción, así como de las condiciones de almacenamiento y variedad de la uva. Aun así, dado que la materia prima es únicamente el hollejo, se pueden esperar bajas cantidades de antocianinas si las vacuolas en donde se encuentran los pigmentos están encogidas [3].

#### 4.2. Cuantificación de carotenoides

La determinación cuantitativa de carotenoides se realizó por medio de una espectrofotometría de luz ultravioleta visible mediante un espectrofotómetro Génesis 30 en un rango visible entre los 325 y 700 nanómetros. De acuerdo con lo descrito por [60], el extracto fue disuelto en un volumen de solvente apropiado, para este caso se utilizó etanol al 96% hasta obtener un factor de dilución de 62.5; posteriormente se realizan las lecturas de absorbancia como se observa en la figura 21.

La cuantificación de carotenoides se determinó según la metodología descrita por [61], de acuerdo con la ecuación 11, expresado en  $\mu\text{g}$  de  $\beta$ -caroteno por 100 g de materia seca. En el Anexo D, se detallan las lecturas de absorbancia tomadas para las extracciones y en el Anexo F se describe el proceso de cálculo para la cuantificación de carotenoides.

$$\text{Ecuación 11. } \textit{Carotenoides totales} = \frac{A * V * 10^6}{\epsilon * 100}$$

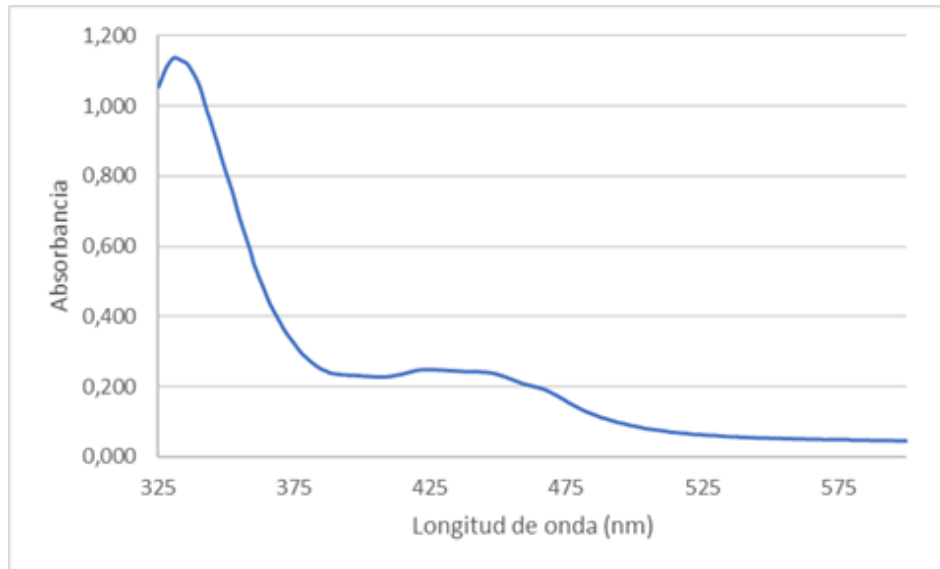
Donde:

A: Absorbancia.

V: Volumen total del extracto.

$\epsilon$ : Absortividad molar de la molécula de referencia (2500 para el  $\beta$ -caroteno)

**Figura 21.**  
*Relación de absorbancia y longitud de onda para el extracto de mandarina.*



**Nota.** La gráfica muestra la curva de absorbancia realizada por espectrofotometría como promedio de las extracciones de la cáscara de mandarina.

**Tabla 20.**  
*Promedio de carotenoides obtenidos de los extractos de cáscara de mandarina.*

EXTRACCIÓN DE CÁSCARA DE MANDARINA	
Absorbancia máxima	1.139
C. totales	1139 $\mu\text{g}$ $\beta$ -caroteno/100g

**Nota.** La tabla muestra el promedio de carotenoides totales obtenidos en la extracción de colorante de la cáscara de mandarina.

Según lo descrito por [51], el color amarillo-naranja de variedades de frutas, como los cítricos, se debe a los carotenoides, presentes en su gran mayoría en los plástidos del flavedo, la cual es la parte externa de la cáscara; de estos pigmentos cabe destacar la presencia de xantofilas, que, específicamente para la mandarina sobresale la presencia de  $\beta$ -criptoxantina en el epicarpio, siendo la responsable de su coloración. De acuerdo con la figura 21, se observa un máximo de absorbancia a 331 nm, no obstante, la  $\beta$ -criptoxantina y el  $\beta$ -caroteno absorben a una longitud de onda máxima de 450 nm teniendo como medio de extracción petrolato líquido y etanol [60].

Según la tabla 20, se obtuvieron 1139 µg de β-caroteno / 100 g, similar a [15], con 1340 µg / 100 g para la variedad clementina. Este valor puede variar por las condiciones de extracción, prácticas agrícolas, condiciones de producción y etapa de maduración [15].

En relación con lo anteriormente expuesto, no fue posible encontrar un carotenoide específico a la longitud de absorbancia máxima para nuestro caso; esta diferencia pudo ser causada por tener una mezcla de carotenoides en el extracto, que, al no estar aislados ocasionan un posible encubrimiento de los mismos [60]. De igual forma, se debe considerar una diferencia entre los valores obtenidos experimentalmente y la especie de carotenoides reportados a ciertas longitudes de onda máxima, ya que, dependen en gran medida del solvente utilizado; la posición de máxima absorbancia puede variar dependiendo del medio en el cual ha sido disuelto, para este caso etanol, que al ser un solvente altamente polar es posible que cause un desplazamiento batocrómico o hipsocrómico desde 10 nm hasta 40 nm en casos extremos [60].

### 4.3. Análisis fisicoquímico

#### 4.3.1. Densidad

Para cada extracto obtenido después del proceso de extracción y purificación por destilación simple, la densidad se calculó mediante el método del picnómetro, relacionando la densidad de la sustancia y la densidad del agua. Así, como se observa en la figura 22, se determinó el peso de cada uno de los extractos purificados como el peso del agua destilada, para hallar la densidad del extracto por las ecuaciones 12 a 15.

**Ecuación 12.**  $Masa\ extracto = W_1 - W_0$

**Ecuación 13.**  $Masa\ agua = W_2 - W_0$

**Ecuación 14.**  $V(mL) = \frac{Masa\ agua}{Densidad\ agua}$

**Ecuación 15.**  $\rho_{EX} \left(\frac{g}{mL}\right) = \frac{Masa\ extracto}{V}$

Donde:

$W_0$  = Peso del picnómetro vacío (g)

$W_1$  = Peso del picnómetro con el extracto (g)

$W_2$  = Peso del picnómetro con agua (g)

**Figura 22.**  
*Determinación de la densidad de los extractos.*



**Nota.** La figura muestra el procedimiento de la determinación de la densidad de las muestras mediante el peso con picnómetros.

**Tabla 21.**  
*Determinación de la densidad de los extractos.*

	<b>Cáscara de mandarina</b>	<b>Cáscara de uva</b>
<b>Peso colorante y picnómetro (g)</b>	8.7659	9.0777
<b>Peso picnómetro vacío (g)</b>	6.8555	6.8258
<b>Peso agua y picnómetro (g)</b>	9.1755	9.1755
<b>Masa del extracto (g)</b>	1.9104	2.2519
<b>Densidad del extracto (g / mL)</b>	0.8401	0.9903
	<b>Cáscara de mandarina</b>	<b>Cáscara de uva</b>
<b>Peso colorante y picnómetro (g)</b>	8.8132	8.8248
<b>Peso picnómetro vacío (g)</b>	6.8542	6.8887
<b>Peso agua y picnómetro (g)</b>	9.1755	9.1755
<b>Masa del extracto (g)</b>	1.9590	1.9361
<b>Densidad del extracto (g / mL)</b>	0.8615	0.8514

**Nota.** La tabla muestra la toma de datos de los pesos de los extractos, agua y picnómetro para la determinación de la densidad de los colorantes obtenidos para la primera y segunda extracción respectivamente.

#### **4.3.2. Solubilidad**

La solubilidad es la cantidad máxima de soluto que puede disolverse en una cierta cantidad de disolvente a temperatura dada [12]. Para el análisis de solubilidad de cada uno de los colorantes se emplearon aceite de cocina y agua destilada como solventes,

representando la naturaleza apolar y polar respectivamente; así, se disolvieron 1 mL de cada colorante en 9 mL de solvente, arrojando los resultados que se observan en las figuras 23 y 24.

**Figura 23.**

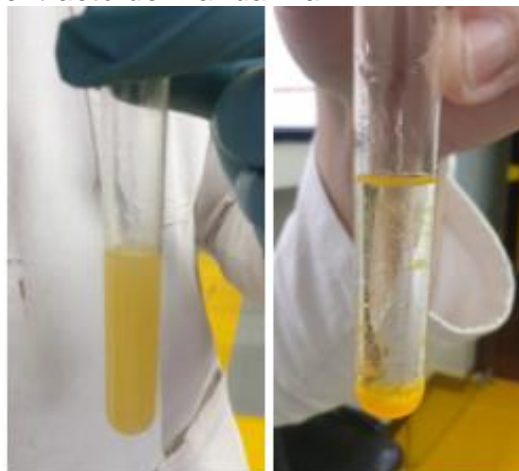
*Ensayo de solubilidad para el extracto de uva.*



**Nota.** La figura muestra en el lado izquierdo la dilución de colorante en agua destilada y en el lado derecho la dilución de colorante en aceite de cocina.

**Figura 24.**

*Ensayo de solubilidad para el extracto de mandarina.*



**Nota.** La figura muestra en el lado izquierdo la dilución de colorante en agua destilada y en el lado derecho la dilución de colorante en aceite de cocina.

Como se observa en la figura 23, el extracto de uva mostró un comportamiento polar, al ser soluble en agua destilada y no en aceite, lo cual corresponde al compuesto presente, ya que, las antocianinas al poseer un gran número de grupos hidroxilos son consideradas moléculas polares.

Asimismo, como se observa en la figura 24, el extracto de la cáscara de mandarina mostró alta solubilidad en agua destilada y no en aceite; cabe destacar que, aunque los compuestos carotenoides son considerados de carácter lipofílico, como los alfa y beta carotenos, las xantofilas son solubles en compuestos polares [51], así, como se mencionó anteriormente, el pigmento mayormente presente en el epicarpio de la mandarina es la  $\beta$ -criptoxantina, compuesto carotenoide soluble en agua.

#### 4.3.3. pH

Este valor indica si una sustancia es ácida, básica o neutra; es uno de los parámetros de calidad fundamentales para identificar si un producto está alterado [12]. Se determinó por medio de un pH-métro digital y los resultados se observan en la tabla 22.

**Tabla 22.**

*Medición de pH de los extractos.*

Muestra	Medición de pH <sup>1</sup>	Medición de pH <sup>2</sup>
Mandarina	5.79	5.10
Uva	3.28	3.60

**Nota.** La tabla muestra las mediciones de pH realizadas para los colorantes de la primera<sup>1</sup> y segunda<sup>2</sup> extracción.

#### 4.3.4. Índice de refracción

Esta medida indica el comportamiento de la luz al atravesar la muestra [3]. Este valor se halló por medio de un refractómetro digital y los resultados se ven en la tabla 23.

**Tabla 23.**

*Medición del índice de refracción de los extractos.*

Muestra	Índice de refracción <sup>1</sup>	Índice de refracción <sup>2</sup>
Mandarina	1.3784	1.3794
Uva	1.3460	1.3724

**Nota.** La tabla muestra las mediciones del índice de refracción realizadas para los colorantes de la primera<sup>1</sup> y segunda<sup>2</sup> extracción.



#### 4.3.5. Grados Brix

Los grados Brix son un sistema de medición que permiten determinar la concentración sacarosa por 100 mililitros de una solución [3], este valor se determinó con ayuda de un refractómetro digital y los resultados obtenidos se observan a continuación.

**Tabla 24.**

*Medición de los grados Brix de los extractos.*

Muestra	° Brix <sup>1</sup>	° Brix <sup>2</sup>
Mandarina	26.8	29.0
Uva	20.5	22.0

**Nota.** La tabla muestra las mediciones de los grados Brix realizados para los colorantes de la primera<sup>1</sup> y segunda<sup>2</sup> extracción.

De acuerdo a la tabla 24, el colorante de mandarina tuvo un valor promedio de 27.9 mientras que, el colorante de uva obtuvo un valor promedio de 21.5 en la medición de grados Brix, esto depende significativamente del contenido de azúcar de las materias primas, así como del proceso de secado, ya que se concentran sus solutos.

#### 4.4. Análisis microbiológico

En vista del gran número de enfermedades transmitidas por vía oral a través de algunos alimentos, se deben realizar pruebas de demostración y recuento de grupos de microorganismos como indicador higiénico de productos destinados al consumo humano. Por lo tanto, se llevaron a cabo las pruebas de Escherichia Coli, coliformes totales, mohos y levaduras para determinar la posible presencia de estos microorganismos patógenos en los extractos obtenidos.

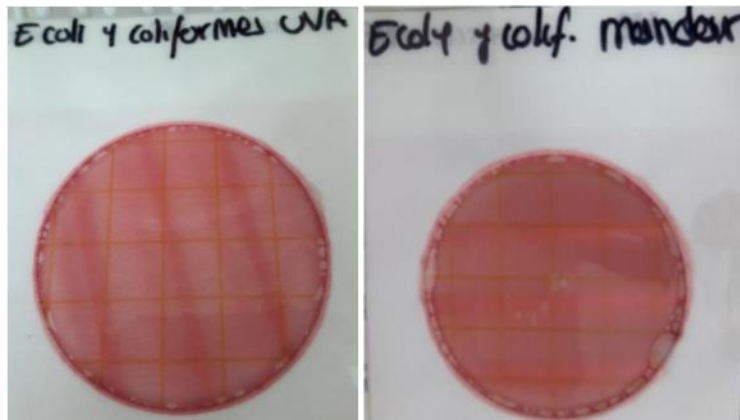
Como se observa a continuación en las figuras 25, 26 y 27, no se observó presencia de microorganismos en los extractos de colorante, siendo < 10 UFC por mL de colorante, así, se obtienen resultados positivos para el análisis microbiológico de los colorantes naturales, ya que, si bien no existe una normativa nacional o internacional que rija un número máximo permitido de microorganismos, para la industria de alimentos deben ser libres de patógenos.

#### 4.4.1. *Escherichia coli*

Es un bacilo corto Gram negativo y algunas cepas *E. coli* pueden ser patógenas y pueden provocar enfermedades diarreicas e intoxicaciones por el consumo de agua y alimentos contaminados [62]. Se siguió la metodología propuesta por el método oficial AOAC 991.14 descrito por [63] mediante las placas de recuento rápido; pasado el tiempo de incubación se procede al recuento de colonias para cada uno de los extractos, como se observa en la figura 25.

**Figura 25.**

*Análisis microbiológico de la presencia de Escherichia coli.*



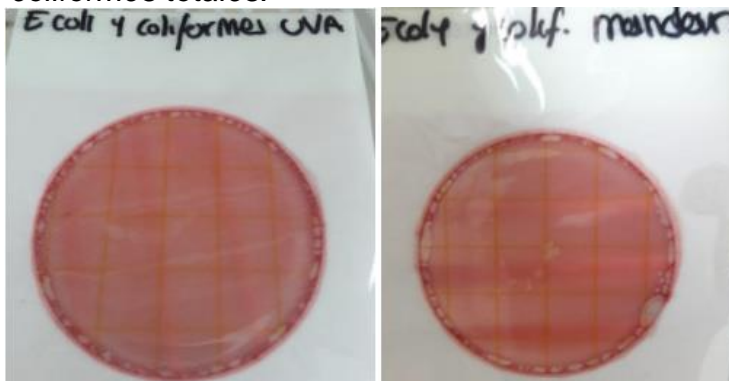
**Nota.** La figura muestra las placas de recuento rápido luego de la incubación para determinar la presencia de *Escherichia coli* en los extractos de uva y mandarina respectivamente.

#### 4.4.2. *Coliformes totales*

Las bacterias coliformes son un grupo relacionado al suelo, agua y el tracto intestinal de los animales; se han utilizado como indicadores de condiciones insalubres en la producción de alimentos y bebidas. La prueba de coliformes busca de manera amplia, dar una visión de los organismos presentes en los productos terminados, dando indicación de condiciones antihigiénicas en el proceso o lugar de trabajo [64]. Para ello se siguió la propuesta por [64], según el método AOAC 991.14. Luego que se termina el tiempo de incubación, se procede al recuento de colonias para cada uno de los extractos como se muestra en la figura 26.

**Figura 26.**

*Análisis microbiológico de la presencia de coliformes totales.*



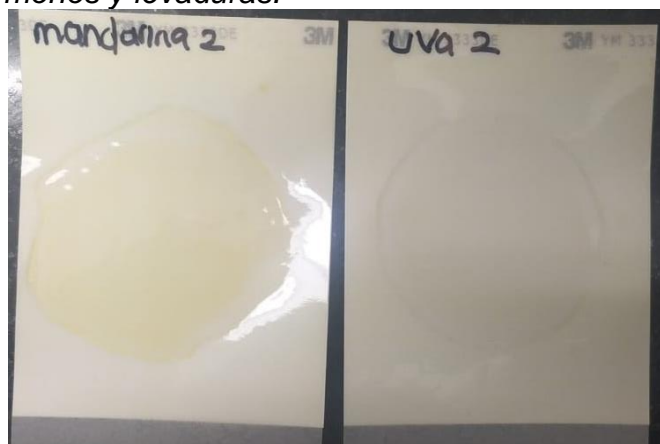
**Nota.** La figura muestra las placas de recuento rápido luego de la incubación para determinar la presencia de coliformes en los extractos de uva y mandarina respectivamente.

**4.4.3. Mohos y levaduras**

Los hongos y levaduras se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente, ciertas especies son útiles para la elaboración de algunos alimentos, sin embargo, también pueden ser causantes de la descomposición de otros. Los mohos se asocian a ciertos hongos filamentosos multicelulares, donde todo alimento enmohecido se considera no apto para el consumo humano. Se siguió el proceso descrito por [65], de acuerdo al método oficial AOAC 997.02, como se observa en la figura 27.

**Figura 27.**

*Análisis microbiológico de la presencia de mohos y levaduras.*



**Nota.** La figura muestra las placas de recuento rápido luego de la incubación para determinar la presencia de mohos y levaduras de los extractos de mandarina y uva respectivamente.

## 4.5. Estabilidad de los colorantes

Los ensayos para probar la estabilidad de los colorantes obtenidos, se realizaron siguiendo la metodología propuesta por Lucero y Muñoz [57], donde se modifican valores de pH, temperatura y condiciones de luz a las que se almacenan los productos durante un tiempo promedio de 7 días; posterior a ello se realiza la lectura de absorbancias y la cuantificación de antocianinas y carotenoides para observar la posible degradación de los compuestos de interés a las condiciones establecidas.

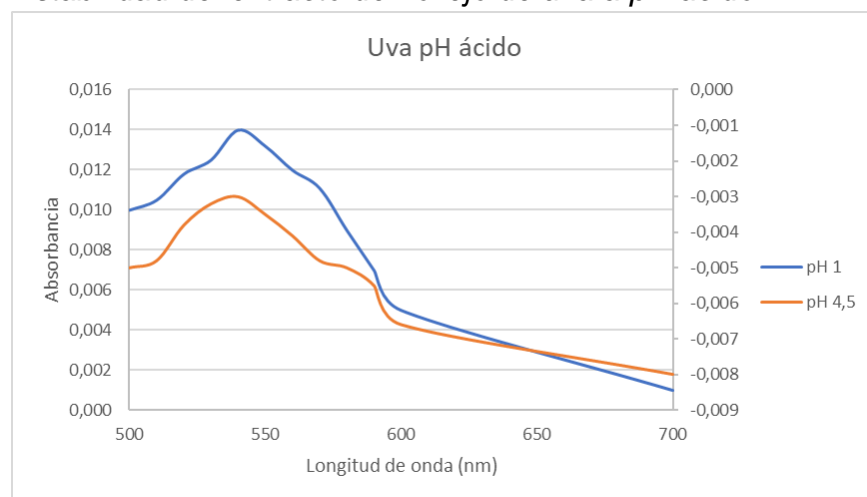
### 4.5.1. pH

Se evaluó la estabilidad de los extractos obtenidos con tres muestras diferentes en envases ámbar cada una con 3 mL aproximadamente, las cuales, se someten a condiciones de pH básico, neutro y ácido; para ello, se adicionan pequeñas cantidades de disoluciones de hidróxido sódico y ácido clorhídrico hasta alcanzar un pH de 3.0, 6.0 y 9.0 respectivamente. Los resultados obtenidos se observan en las figuras 28, 29 y 30 para antocianinas y 31, 32 y 33 para carotenoides pasados los 7 días de almacenamiento.

4.5.1.a. Estabilidad a diferentes condiciones de pH del extracto de hollejo de uva.

**Figura 28.**

*Estabilidad del extracto de hollejo de uva a pH ácido.*



**Nota.** La gráfica muestra la lectura de absorbancias para el extracto de hollejo de uva a condición de almacenamiento de pH 3.

**Tabla 25.**

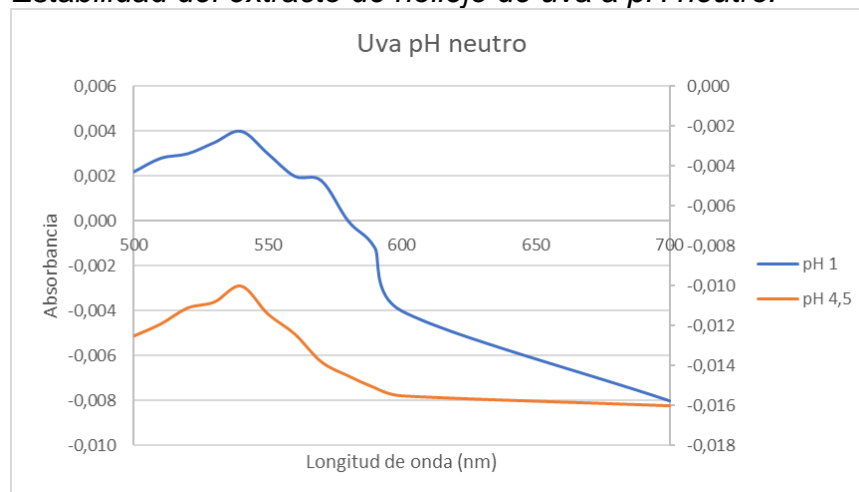
*Promedio de antocianinas obtenidas para el extracto de uva a pH ácido.*

pH ÁCIDO HOLLEJO DE UVA	
FD	20
A. total	0.0080
Anto. monoméricas	2.6742 mg cianidina / 100 g
Anto. totales	4.3456 mg cianidina / 100 g

**Nota.** La tabla muestra el promedio de antocianinas monoméricas y totales obtenidos en la extracción de colorante del hollejo de uva a condición de almacenamiento de pH 3.

**Figura 29.**

*Estabilidad del extracto de hollejo de uva a pH neutro.*



**Nota.** La gráfica muestra la lectura de absorbancias para el extracto de hollejo de uva a condición de almacenamiento de pH 6.

**Tabla 26.**

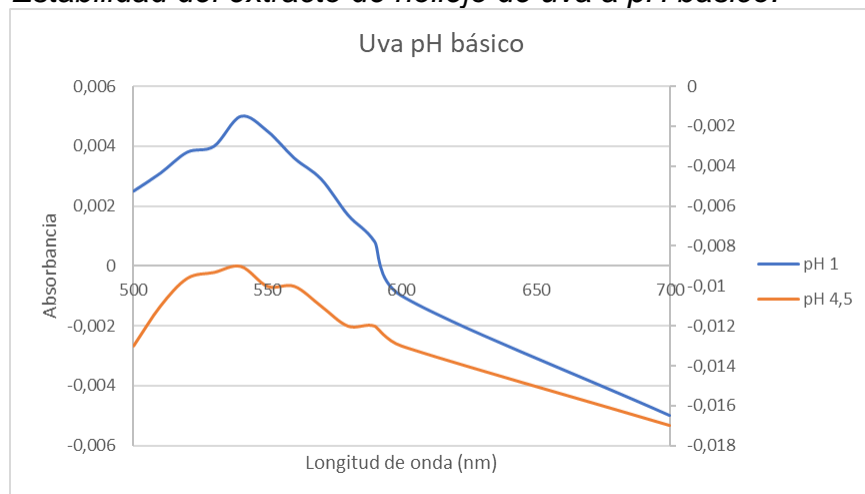
*Promedio de antocianinas obtenidas para el extracto de uva a pH neutro.*

<b>pH NEUTRO HOLLEJO DE UVA</b>	
<b>FD</b>	<b>20</b>
<b>A. total</b>	<b>0.0060</b>
<b>Anto. monoméricas</b>	<b>2.0057 mg cianidina / 100 g</b>
<b>Anto. totales</b>	<b>4.0113 mg cianidina / 100 g</b>

**Nota.** La tabla muestra el promedio de antocianinas monoméricas y totales obtenidos en la extracción de colorante del hollejo de uva a condición de almacenamiento de pH 6.

**Figura 30.**

*Estabilidad del extracto de hollejo de uva a pH básico.*



**Nota.** La gráfica muestra la lectura de absorbancias para el extracto de hollejo de uva a condición de almacenamiento de pH 9.

**Tabla 27.**

*Promedio de antocianinas obtenidas para el extracto de uva a pH básico.*

<b>pH BÁSICO HOLLEJO DE UVA</b>	
<b>FD</b>	<b>20</b>
<b>A. total</b>	<b>0.0020</b>
<b>Anto. monoméricas</b>	<b>0.6686 mg cianidina / 100 g</b>
<b>Anto. totales</b>	<b>3.3428 mg cianidina / 100 g</b>

**Nota.** La tabla muestra el promedio de antocianinas monoméricas y totales obtenidos en la extracción de colorante del hollejo de uva a condición de almacenamiento de pH 9.

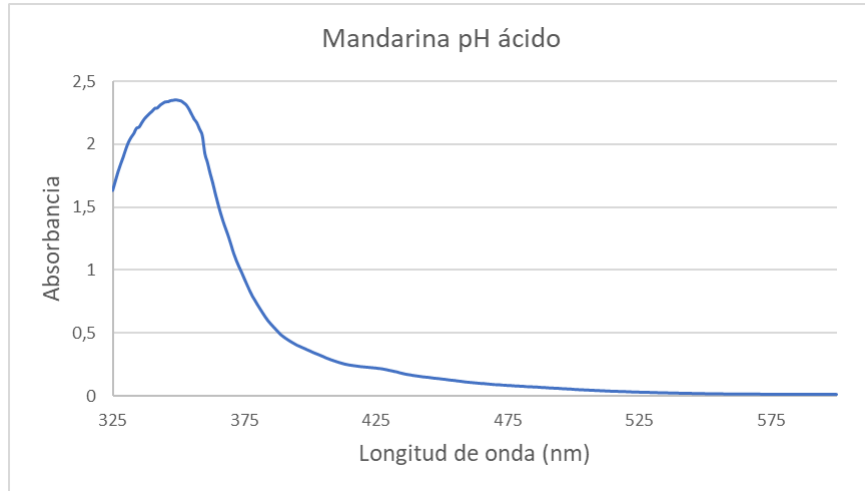
El pH tiene un efecto significativo, principalmente en la estructura molecular, estabilidad de las antocianinas y hasta su color. El pigmento a condiciones de pH ácido se encuentra en su forma más estable, adquiriendo una estructura oxonio de catión flavilio, lo que permite su tono rojizo, así, mientras se aumenta el pH, el núcleo flavilio se puede ver expuesto al ataque nucleofílico del agua promoviendo la desprotonación del catión flavilio dando lugar a formas como la chalcona o la pseudobase carbinol [66], incoloras e inestables por su cadena abierta; si se continúa el aumento de pH con valores superiores a 7.0, la desprotonación continua produce la forma quinoidal, con coloraciones violetas y azules, donde es más notable el efecto batocrómico [51]. Es por ello que, según la tabla 25, la menor degradación de antocianinas se dio a condiciones de pH ácido, el cual hace más estable su estructura. En el Anexo G, se muestra a detalle el cambio de la estructura de antocianinas a diferentes valores de pH.

De acuerdo con lo anterior, la acilación del colorante aumenta su estabilidad, y por lo tanto la posibilidad de que los extractos de antocianinas puedan ser comercializados como colorantes; sin embargo, este factor es un limitante del uso que se le pueda dar en la mayoría de alimentos procesados.

4.5.1.b. Estabilidad a diferentes condiciones de pH del extracto de la cáscara de mandarina.

**Figura 31.**

*Estabilidad del extracto de la cáscara de mandarina a pH ácido.*



**Nota.** La gráfica muestra la lectura de absorbancias para el extracto de cáscara de mandarina a condición de almacenamiento de pH 3.

**Tabla 28.**

*Promedio de carotenoides obtenidos de los extractos de cáscara de mandarina a pH ácido.*

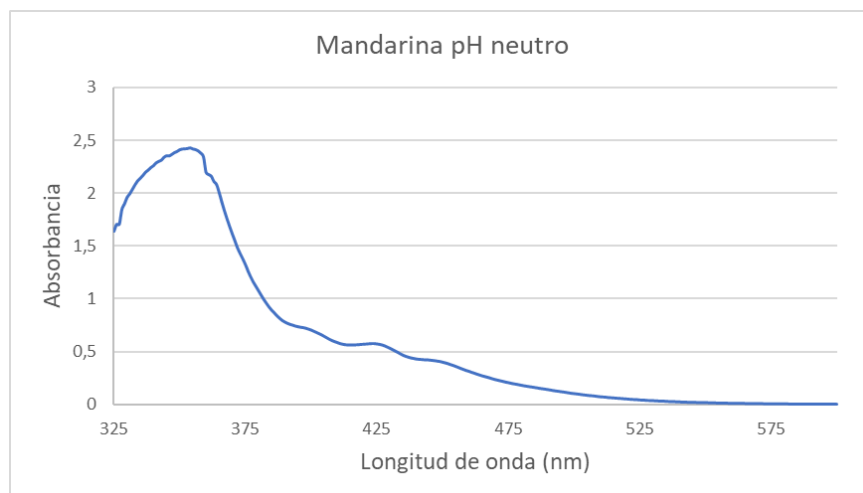
<b>pH ÁCIDO CÁSCARA DE MANDARINA</b>	
Absorbancia máxima	2.349
<b>C. totales</b>	<b>187.920 µg β-caroteno/100g</b>

**Nota.** La tabla muestra el promedio de carotenoides totales obtenidos en la extracción de colorante de la cáscara de mandarina a condición de almacenamiento de pH 3.



**Figura 32.**

*Estabilidad del extracto de la cáscara de mandarina a pH neutro.*



**Nota.** La gráfica muestra la lectura de absorbancias para el extracto de cáscara de mandarina a condición de almacenamiento de pH 6.

**Tabla 29.**

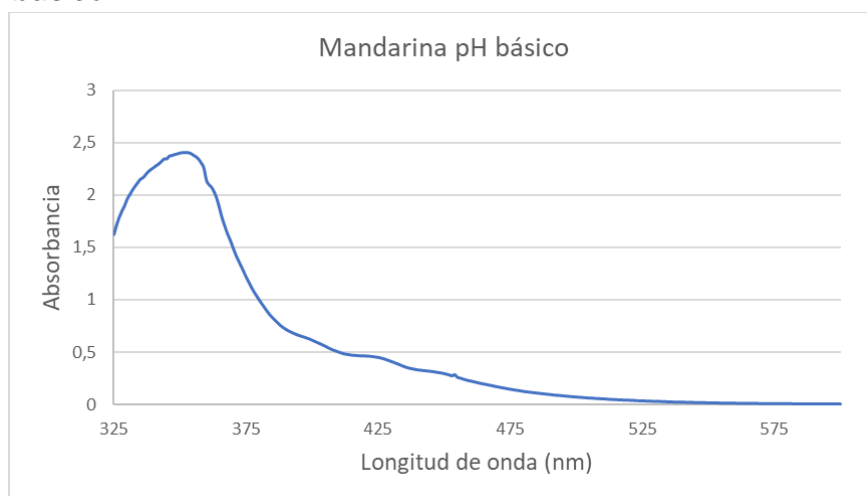
*Promedio de carotenoides obtenidos de los extractos de cáscara de mandarina a pH neutro.*

<b>pH NEUTRO CÁSCARA DE MANDARINA</b>	
Absorbancia máxima	2.433
C. totales	194.640 $\mu\text{g}$ $\beta$ -caroteno/100g

**Nota.** La tabla muestra el promedio de carotenoides totales obtenidos en la extracción de colorante de la cáscara de mandarina a condición de almacenamiento de pH 6.

**Figura 33.**

*Estabilidad del extracto de la cáscara de mandarina a pH básico.*



**Nota.** La gráfica muestra la lectura de absorbancias para el extracto de cáscara de mandarina a condición de almacenamiento de pH 9.

**Tabla 30.**

*Promedio de carotenoides obtenidos de los extractos de cáscara de mandarina a pH básico.*

pH BÁSICO CÁSCARA DE MANDARINA	
Absorbancia máxima	2.407
C. totales	192.560 $\mu\text{g}$ $\beta$ -caroteno/100g

**Nota.** La tabla muestra el promedio de carotenoides totales obtenidos en la extracción de colorante de la cáscara de mandarina a condición de almacenamiento de pH 9.

Los carotenoides, en general, no son resistentes a valores de pH extremos ya que, condiciones ácidas o básicas pueden causar isomerizaciones *cis-trans* en algunos de los dobles enlaces, lo que puede también causar el desplazamiento del máximo de absorbancia [51]. Si bien, se puede observar que la degradación de carotenoides es significativa, pero similar para los tres casos, carotenoides como las xantofilas son especialmente inestables en medio alcalino [31].

#### **4.5.2. Temperatura**

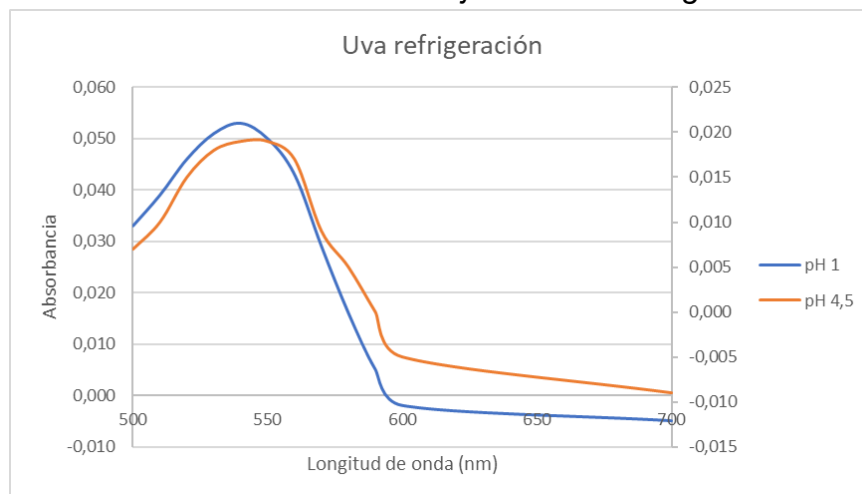
Los colorantes obtenidos son sometidos a diferentes condiciones de temperatura para evaluar su estabilidad. En tres envases ámbar se adicionan aproximadamente 3 mL de

cada extracto, los cuales se almacenan a temperatura de congelación a -10 °C, refrigeración a 4 °C y condiciones ambientales entre 16 °C – 18 °C.

#### 4.5.2.a. Estabilidad a diferentes temperaturas del extracto de hollejo de uva.

**Figura 34.**

*Estabilidad del extracto de hollejo de uva a refrigeración.*



**Nota.** La gráfica muestra la lectura de absorbancias para el extracto de hollejo de uva a condición de almacenamiento de 3 °C.

**Tabla 31.**

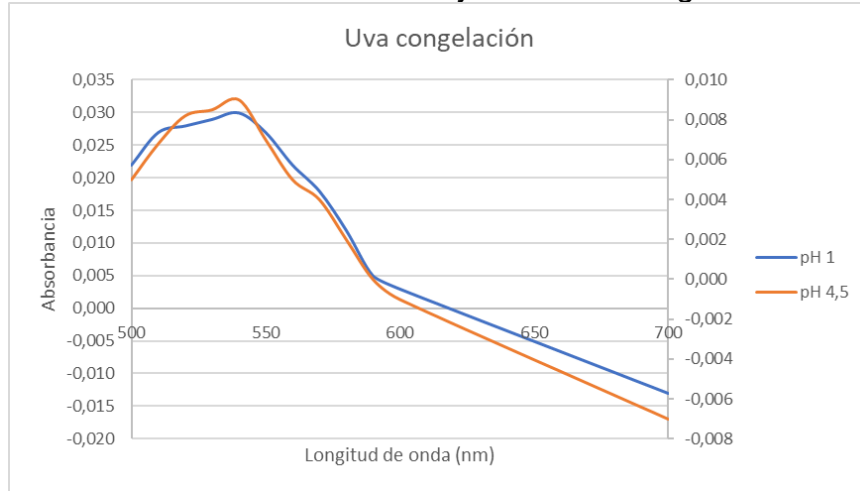
*Promedio de antocianinas obtenidas para el extracto de uva a refrigeración.*

REFRIGERACIÓN HOLLEJO DE UVA	
FD	20
A. total	0.0300
Anto. monoméricas	10.0283 mg cianidina / 100 g
Anto. totales	19.3880 mg cianidina / 100 g

**Nota.** La tabla muestra el promedio de antocianinas monoméricas y totales obtenidos en la extracción de colorante del hollejo de uva a condición de almacenamiento de 3 °C.

**Figura 35.**

*Estabilidad del extracto de hollejo de uva a congelación.*



**Nota.** La gráfica muestra la lectura de absorbancias para el extracto de hollejo de uva a condición de almacenamiento de  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

**Tabla 32.**

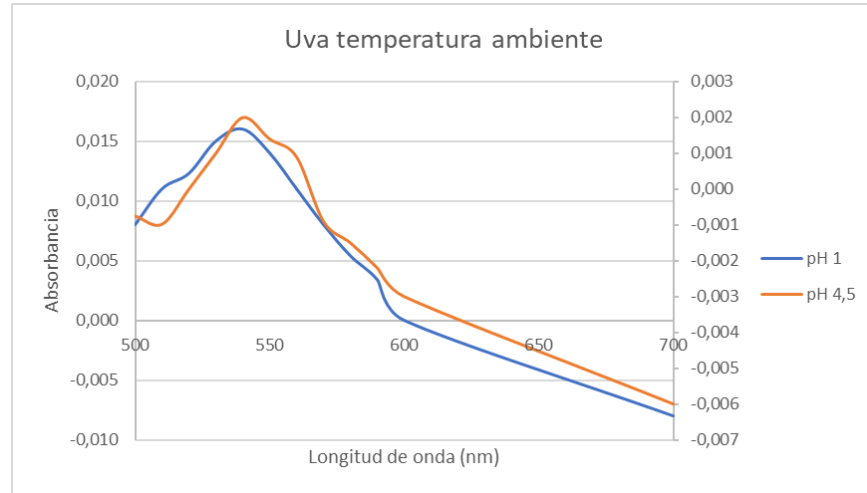
*Promedio de antocianinas obtenidas para el extracto de uva a congelación.*

CONGELACIÓN HOLLEJO DE UVA	
FD	20
A. total	0.0270
Anto. monoméricas	9.0254 mg cianidina / 100 g
Anto. totales	14.3738 mg cianidina / 100 g

**Nota.** La tabla muestra el promedio de antocianinas monoméricas y totales obtenidos en la extracción de colorante del hollejo de uva a condición de almacenamiento de  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

**Figura 36.**

*Estabilidad del extracto de hollejo de uva a temperatura ambiente.*



**Nota.** La gráfica muestra la lectura de absorbancias para el extracto de hollejo de uva a condición de almacenamiento de 18 °C.

**Tabla 33.**

*Promedio de antocianinas obtenidas para el extracto de uva a temperatura ambiente.*

AMBIENTE HOLLEJO DE UVA	
FD	20
A. total	0.0160
Anto. monoméricas	5.3484 mg cianidina / 100 g
Anto. totales	8.0226 mg cianidina / 100 g

**Nota.** La tabla muestra el promedio de antocianinas monoméricas y totales obtenidos en la extracción de colorante del hollejo de uva a condición de almacenamiento de 18 °C.

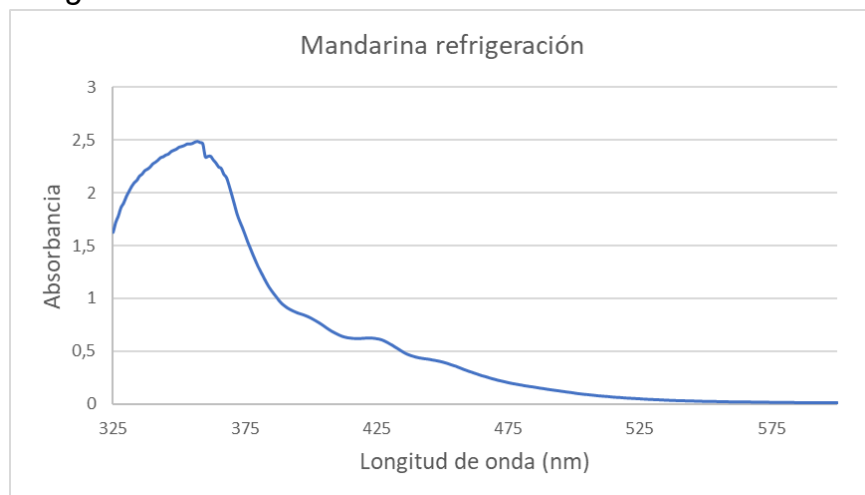
Las antocianinas son pigmentos termosensibles, específicamente débiles al calor durante el procesamiento y almacenamiento, de esta manera, el incremento de la temperatura demuestra menor retención de los compuestos de interés, debido a que, las mayores temperaturas ocasionan la pérdida del azúcar glicosilante y la apertura del anillo, formando entonces la estructura chalcona incolora e inestable [66], así como se demuestra en la tabla 33, donde se observa una degradación de hasta 65.71% respecto al extracto base a condiciones de temperatura ambiente; asimismo, para condición de almacenamiento de congelación se degrada hasta un 34.28% respecto al extracto base,

finalmente las muestras con mayor retención de antocianinas se observaron a condiciones de refrigeración, mostrando una degradación de 17.14% respecto al extracto inicial, siendo la mejor condición para su almacenamiento.

4.5.2.b. Estabilidad a diferentes temperaturas del extracto de la cáscara de mandarina.

**Figura 37..**

*Estabilidad del extracto de la cáscara de mandarina a refrigeración.*



**Nota.** La gráfica muestra la lectura de absorbancias para el extracto de cáscara de mandarina a condición de almacenamiento de 3 °C.

**Tabla 34.**

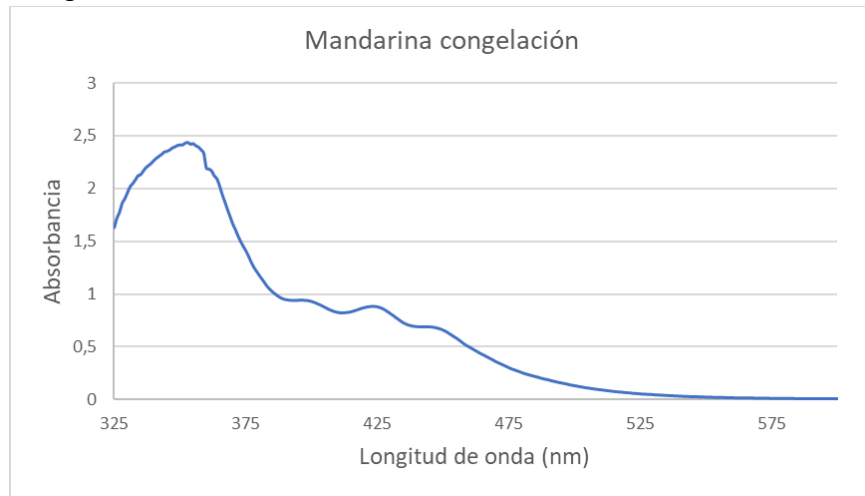
*Promedio de carotenoides obtenidos de los extractos de cáscara de mandarina a refrigeración.*

REFRIGERACIÓN CÁSCARA DE MANDARINA	
Absorbancia máxima	2.486
C. totales	198.880 µg β-caroteno/100g

**Nota.** La tabla muestra el promedio de carotenoides totales obtenidos en la extracción de colorante de la cáscara de mandarina a condición de almacenamiento de 3 °C.

**Figura 38.**

*Estabilidad del extracto de la cáscara de mandarina a congelación.*



**Nota.** La gráfica muestra la lectura de absorbancias para el extracto de cáscara de mandarina a condición de almacenamiento de -18 °C.

**Tabla 35.**

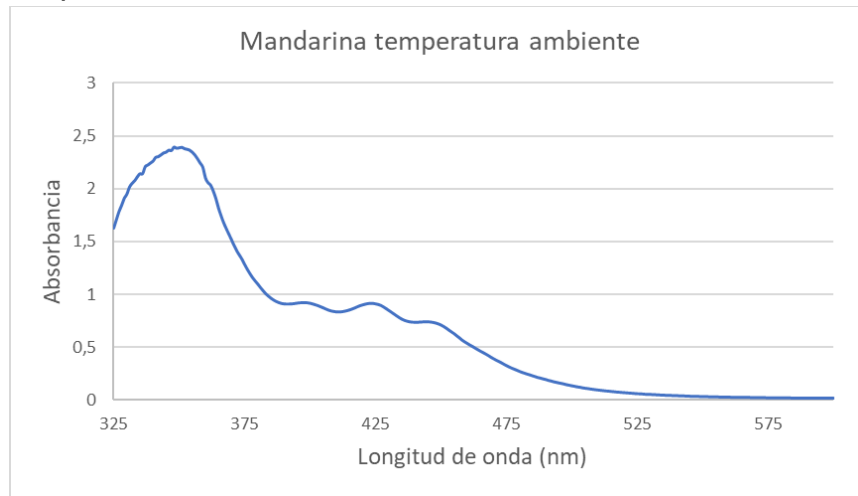
*Promedio de carotenoides obtenidos de los extractos de cáscara de mandarina a congelación.*

CONGELACIÓN CÁSCARA DE MANDARINA	
Absorbancia máxima	2.437
C. totales	194.960 µg β-caroteno/100g

**Nota.** La tabla muestra el promedio de carotenoides totales obtenidos en la extracción de colorante de la cáscara de mandarina a condición de almacenamiento de -18 °C.

**Figura 39.**

*Estabilidad del extracto de la cáscara de mandarina a temperatura ambiente.*



**Nota.** La gráfica muestra la lectura de absorbancias para el extracto de cáscara de mandarina a condición de almacenamiento de 18 °C.

**Tabla 36.**

*Promedio de carotenoides obtenidos de los extractos de cáscara de mandarina a temperatura ambiente.*

AMBIENTE CÁSCARA DE MANDARINA	
Absorbancia máxima	2.395
C. totales	191.600 µg β-caroteno/100g

**Nota.** La tabla muestra el promedio de carotenoides totales obtenidos en la extracción de colorante de la cáscara de mandarina a condición de almacenamiento de 18 °C.

La gran mayoría de carotenoides se ven afectados en sus configuraciones *cis-trans* debido a reacciones de isomerización a causa de tratamientos térmicos o condiciones de almacenamiento con cambios de temperatura. Gran parte de carotenos en la naturaleza se encuentran en su estado *trans*, sin embargo, estos dobles enlaces se transforman parcialmente en su forma *cis* durante tratamientos térmicos [51].

En procesos de calentamiento, las isomerizaciones dan como resultado una mezcla de estereoisómeros [67], igualmente, estas reacciones también ocurren lentamente a temperatura ambiente, ocasionando una posible pérdida en la intensidad del color y una menor actividad de vitamina A.



Esto se puede evidenciar en los resultados anteriores, donde ocurre una degradación significativa de los compuestos de interés a estas condiciones.

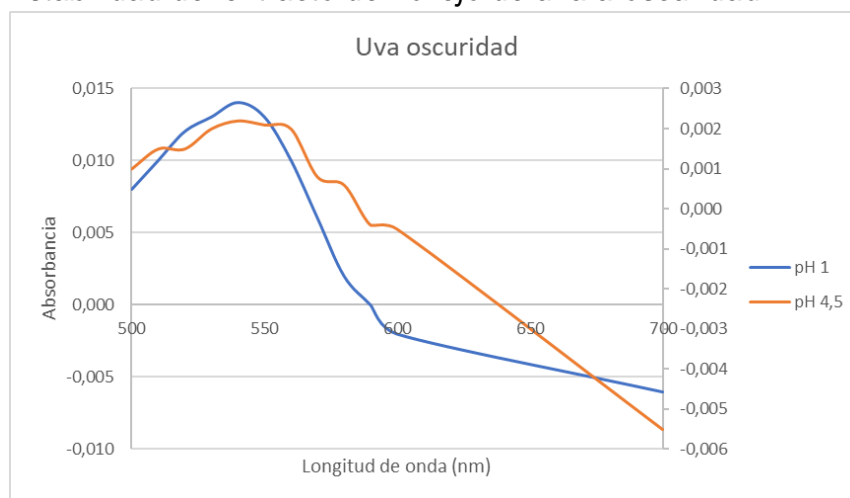
### 4.5.3. Luz

Asimismo, 3 mL de cada colorante se adicionan a envases ámbar traslúcidos, estos se mantienen a temperatura ambiente almacenados en presencia de luz natural y ausencia de luz.

#### 4.5.3.a. Estabilidad a condiciones de luz del extracto de hollejo de uva.

**Figura 40.**

*Estabilidad del extracto de hollejo de uva a oscuridad.*



**Nota.** La gráfica muestra la lectura de absorbancias para el extracto de hollejo de uva a condición de almacenamiento de 18 °C y oscuridad.

**Tabla 37.**

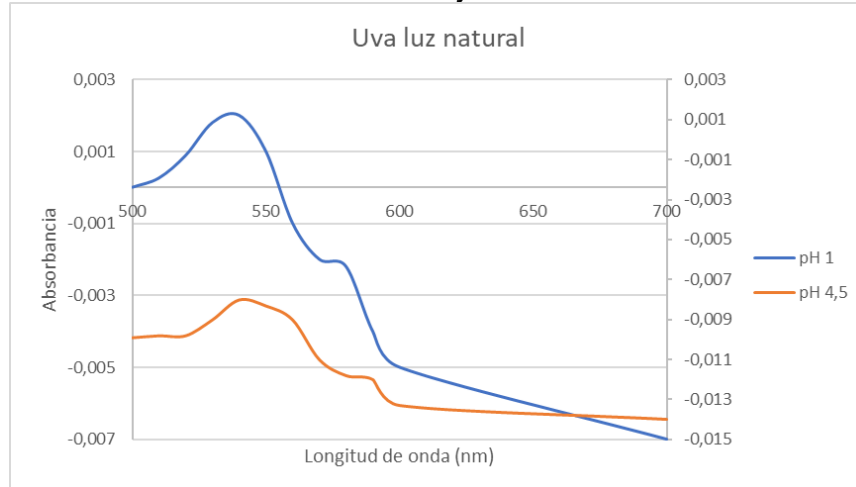
*Promedio de antocianinas obtenidas para el extracto de uva a oscuridad.*

OSCURIDAD HOLLEJO DE UVA	
FD	40
A. total	0.0123
Anto. monoméricas	8.2232 mg cianidina / 100 g
Anto. totales	13.3710 mg cianidina / 100 g

**Nota.** La tabla muestra el promedio de antocianinas monoméricas y totales obtenidos en la extracción de colorante del hollejo de uva a condición de almacenamiento de 18 °C y ausencia de luz.

**Figura 41.**

*Estabilidad del extracto de hollejo de uva a luz natural.*



**Nota.** La gráfica muestra la lectura de absorbancias para el extracto de hollejo de uva a condición de almacenamiento de 18 °C y luz natural.

**Tabla 38.**

*Promedio de antocianinas obtenidas para el extracto de uva a luz natural.*

LUZ NATURAL HOLLEJO DE UVA	
FD	20
A. total	0.0030
Anto. monoméricas	1.0028 mg cianidina / 100 g
Anto. totales	3.0085 mg cianidina / 100 g

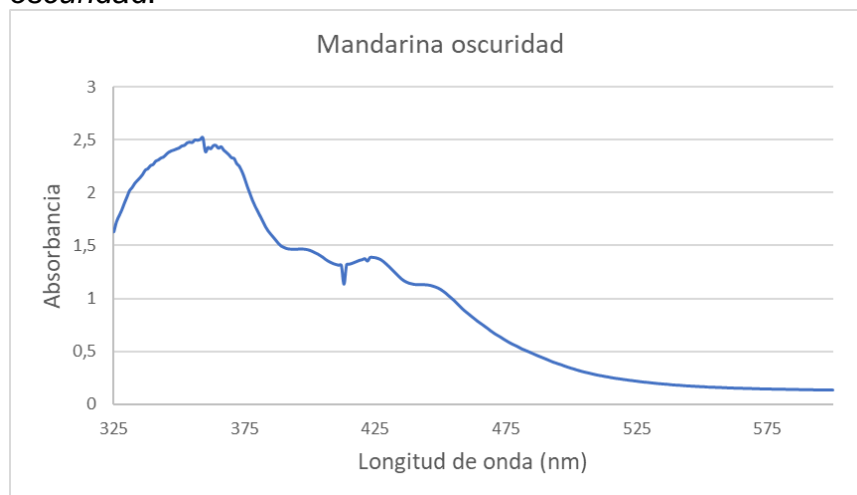
**Nota.** La tabla muestra el promedio de antocianinas monoméricas y totales obtenidos en la extracción de colorante del hollejo de uva a condición de almacenamiento de 18 °C y luz natural.

De acuerdo a lo anterior, se analiza el efecto en la degradación del compuesto de interés para condiciones de ausencia de luz y exposición a luz directa, donde los mejores resultados se obtienen a condiciones de total oscuridad de acuerdo a lo expuesto en la tabla 37, con una concentración de antocianinas de 13.37 mg / 100 g comparado con 3.00 mg / 100 g de antocianinas en el extracto expuesto a luz solar directa. El almacenamiento a condición de luz natural ocasiona mayor degradación de antocianinas, debido a que, la luz es capaz de acelerar los cambios fotoquímicos, provocando la transformación de la molécula a la forma chalcona [66], lo cual, a su vez puede limitar su uso en los productos alimenticios procesados.

4.5.3.b. Estabilidad a condiciones de luz del extracto de la cáscara de mandarina.

**Figura 42.**

*Estabilidad del extracto de la cáscara de mandarina a oscuridad.*



**Nota.** La gráfica muestra la lectura de absorbancias para el extracto de cáscara de mandarina a condición de almacenamiento de 18 °C y oscuridad.

**Tabla 39.**

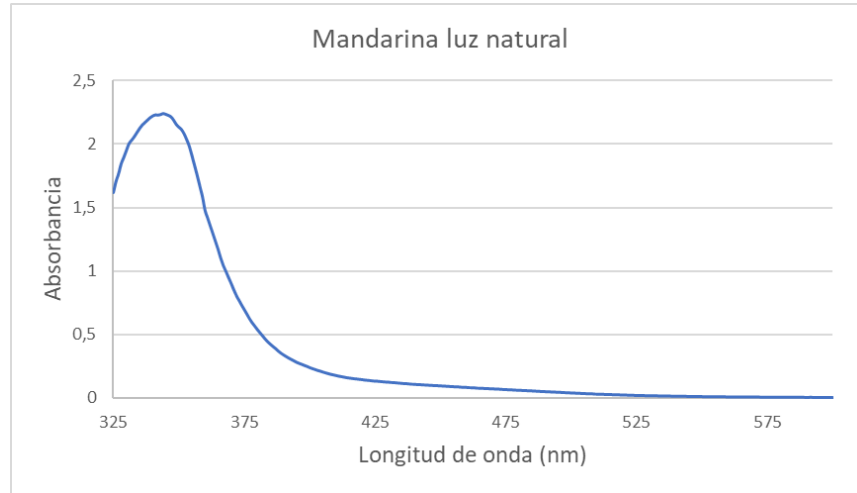
*Promedio de carotenoides obtenidos de los extractos de cáscara de mandarina a oscuridad.*

OSCURIDAD CÁSCARA DE MANDARINA	
Absorbancia máxima	2.524
C. totales	201.920 µg β-caroteno/100g

**Nota.** La tabla muestra el promedio de carotenoides totales obtenidos en la extracción de colorante de la cáscara de mandarina a condición de almacenamiento de 18 °C y ausencia de luz.

**Figura 43.**

*Estabilidad del extracto de la cáscara de mandarina a luz natural.*



**Nota.** La gráfica muestra la lectura de absorbancias para el extracto de cáscara de mandarina a condición de almacenamiento de 18 °C y luz natural.

**Tabla 40.**

*Promedio de carotenoides obtenidos de los extractos de cáscara de mandarina a luz natural.*

LUZ NATURAL CÁSCARA DE MANDARINA	
Absorbancia máxima	2.245
C. totales	179.600 µg β-caroteno/100g

**Nota.** La tabla muestra el promedio de carotenoides totales obtenidos en la extracción de colorante de la cáscara de mandarina a condición de almacenamiento de 18 °C y luz natural.

Como se observa anteriormente, los carotenoides fueron mayormente afectados a condiciones de almacenamiento en presencia de luz solar directa, obteniendo una concentración de carotenoides de 179.6 µg / 100 g como se observa en la tabla 40, mientras que, a condiciones de total oscuridad se registró una concentración de 201.92 µg / 100 g de acuerdo a la tabla 39.

Esto se debe a que la exposición directa de luz favorece reacciones fotoquímicas, las cuales ocasionan la ruptura del compuesto de interés y producen un cambio en la estructura química de los carotenoides [28].

## CONCLUSIONES

Se caracterizaron las materias primas seleccionadas aleatoriamente, mediante un análisis bromatológico proximal, determinando los componentes más abundantes que se encuentran dentro de los mismos, tales como humedad, cenizas, grasa, fibra y carbohidratos. Es importante destacar que, los resultados pueden cambiar significativamente en frutas y vegetales por las condiciones de cosecha y almacenamiento, pudiendo afectar en las propiedades del colorante y la cantidad de compuestos bioactivos presentes; por lo que se hace necesario un proceso de selección previo, garantizando que la materia prima se encuentre en óptimas condiciones.

Se establecieron las condiciones del proceso de extracción de colorantes naturales a escala laboratorio por el método Soxhlet, mediante la comparación bibliográfica relacionada a casos de estudios similares, teniendo en cuenta principalmente las variables críticas que influyen en el rendimiento y eficacia del proceso, tales como la temperatura, tiempo de extracción y solvente utilizado.

La elección del solvente utilizado para llevar a cabo el proceso de extracción, fue limitado por factores como su afinidad con los compuestos de interés, de bajo costo y seguro, aunque principalmente, en comparación con otros solventes orgánicos, se tuvo en cuenta el etanol por ser seguro para el consumo humano y, en consecuencia, permitir su uso en la industria alimentaria.

Se realizó la cuantificación de antocianinas y carotenoides de los colorantes, obteniendo 23.3993 mg de cianidina-3-glucósido / 100 g y 1139 µg de β-caroteno / 100 g respectivamente. Los extractos fueron sometidos a pruebas de estabilidad para analizar la posible degradación de los compuestos de interés; los resultados revelaron que las mejores condiciones de almacenamiento se dan en ausencia de luz y a temperatura de refrigeración. Por consiguiente, se debe evitar la exposición directa de luz y condiciones extremas de temperatura y pH, que pueden influir en la intensidad del color, estabilidad de la estructura molecular y disminución de las propiedades funcionales. No obstante,

en muchos de los productos procesados no es posible mantener las condiciones mencionadas, por lo cual se requiere evaluar su aplicación en un producto de la industria de alimentos.

Se realizó la caracterización de los colorantes a partir de pruebas fisicoquímicas y microbiológicas con el fin de evaluar la calidad de los extractos obtenidos y las condiciones higiénicas en las que se encuentran. Se demostró que existe inocuidad en los colorantes de posibles microorganismos patógenos que pueda garantizar su uso en un producto alimenticio sin afectar la salud de los consumidores.

Los extractos obtenidos demuestran un potencial para ser usados como pigmentos, debido a las cantidades de compuestos bioactivos presentes con propiedades funcionales benéficas para la salud, capaces de contribuir favorablemente en los productos alimenticios que los contengan. Por tal motivo, la cáscara de mandarina y el hollejo de uva pueden ser aprovechados dentro de procesos de biorrefinería que, favorezcan la producción de compuestos naturales, ayude al crecimiento de la bioeconomía, mitiguen el impacto ambiental y mejore parte del problema del manejo de residuos en las ciudades y por parte de las empresas.

## BIBLIOGRAFÍA

- [1] Ministerio de salud y protección social, *Perfil nacional de consumo de frutas y verduras*. 2013.
- [2] OIV, “Organización Internacional de la Viña y el Vino.” 2020, [Online]. Available: <http://www.oiv.int/>.
- [3] E. Llamuca, “Extracción de colorantes naturales de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*), mora andina (*Rubus glaucus*) y uva (*Vitis vinífera*) para el uso en la industria de alimentos,” *Esc. Super. Politécnica Chimborazo. Riobamba, Ecuador.*, p. 95, 2015.
- [4] G. Espinoza, “Vid (*Vitis vinifera*), características.,” *Naturaleza Paradais*. 2019, [Online]. Available: <https://naturaleza.paradais-sphynx.com/plantas/arbustos/vid-vitis-vinifera-caracteristicas-cultivo-fruto-uva.htm>.
- [5] J. Guzmán, “Colombia duplicaría su producción de uva y el Valle del Cauca es el líder.” *Agronegocios*, p. 1, 2016.
- [6] T. Santos, T. Alonso, I. Ladero, and A. Rodriguez, “Plantas medicinales españolas. *Vitis Vinifera* L. SUBSP. VINIFERA (VITACEAE),” *Univ. Salamanca*, vol. 1, p. 2005, 2005, [Online]. Available: [http://campus.usal.es/~revistas\\_trabajo/index.php/0211-9714/article/viewFile/6182/6202%0Ahttps://gredos.usal.es/jspui/handle/10366/56391](http://campus.usal.es/~revistas_trabajo/index.php/0211-9714/article/viewFile/6182/6202%0Ahttps://gredos.usal.es/jspui/handle/10366/56391).
- [7] L. Bárcena Oliveros, Á. Beteta Vicente, M. C. Matallana González, and E. Torija Isasa, “Valor nutritivo de la hoja de *Vitis vinifera* L,” *Jornadas del Grup. Hortic. SECH*, vol. 0, no. 65, pp. 83–88, 2014, [Online]. Available: [http://www.sech.info/ACTAS/Acta nº 65. XIII Jornadas del Grupo de Horticultura/Alimentación y Salud II/Valor nutritivo de la hoja de \*Vitis vinifera\* L.pdf](http://www.sech.info/ACTAS/Acta_nº_65_XIII_Jornadas_del_Grupo_de_Horticultura/Alimentación_y_Salud_II/Valor_nutritivo_de_la_hoja_de_Vitis_vinifera_L.pdf).
- [8] W. Mojica, J., & Pérez, *Aprovechamiento de residuos agroindustriales de la industria vinícola del valle de Sáchica*. 2019.
- [9] A. Teixeira *et al.*, “Natural bioactive compounds from winery by-products as health promoters: A review,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 15, no. 9, pp. 15638–15678, 2014, doi: 10.3390/ijms150915638.
- [10] L. Villalba Campos, A. O. Herrera Arévalo, and J. O. Orduz Rodríguez, “Parámetros de calidad en la etapa de desarrollo y maduración en frutos de dos variedades y

- un cultivar de mandarina (*Citrus reticulata* Blanco),” *Orinoquia*, vol. 18, no. 1, p. 21, 2014, doi: 10.22579/20112629.277.
- [11] C. A. Gómez, “Comportamiento del fruto de mandarina ( *Citrus reticulata* L .) var . Arrayana bajo el efecto de diferentes tecnologías poscosecha,” *Tesis Dr.*, 2014.
- [12] M. Díaz, “Extracción de colorantes naturales del mango (*Manguifera Indica* L), mandarina (*Citrus reticulata*), piña (*Ananas comosus*), para el uso en la industria de alimentos,” *Esc. Super. Politécnica Chimborazo. Riobamba, Ecuador.*, p. 47, 2019.
- [13] J. O. Orduz-Rodríguez, J. Monroy, S. Barrera, V. Núñez, and G. Ligarreto, “Caracterización morfo-agronómica y molecular de mandarina ‘Arrayana’ en el piedemonte del Meta (Colombia),” *Corpoica Cienc. y Tecnol. Agropecu.*, vol. 13, no. 1, p. 5, 2012, doi: 10.21930/rcta.vol13\_num1\_art:234.
- [14] C. P. Pássaro and J. Londoño, *Cítricos: cultivo, poscosecha e industrialización*. 2012.
- [15] L. E. Ordoñez-Santos, J. Esparza-Estrada, and P. Vanegas-Mahecha, “Potencial agroindustrial del epicarpio de mandarina como alternativa de colorante natural en pan,” *TecnoLógicas*, vol. 23, no. 48, pp. 17–29, 2020, doi: 10.22430/22565337.1465.
- [16] A. A. Aziz, A. M. Padzil, and H. L. Lian, *Advanced natural Food Colorant Encapsulation Methods : Anthocyanin Plant Pigment*. Elsevier Inc., 2018.
- [17] M. Ramesh and A. Muthuraman, *Flavoring and coloring agents: Health risks and potential problems*. Elsevier Inc., 2018.
- [18] R. Dikshit and P. Tallapragada, *Comparative study of natural and artificial flavoring agents and dyes*, vol. 7. Elsevier Inc., 2018.
- [19] M. J. Córdoba, “Obtención de un colorante orgánico para la industria alimentaria a partir del fruto de Pitahaya en el laboratorio del departamento de química de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua.,” *Implement. Sci.*, vol. 39, no. 1, pp. 1–15, 2014, [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biochi.2015.03.025><http://dx.doi.org/10.1038/nature10402><http://dx.doi.org/10.1038/nature21059><http://journal.stainkudus.ac.id/index.php/equilibrium/article/view/1268/1127><http://dx.doi.org/10.1038/nrmic>



ro2577%0Ahttp://.

- [20] A. Alimentarios, "ADITIVOS ALIMENTARIOS." [Online]. Available: [www.aditivos-alimentarios.com](http://www.aditivos-alimentarios.com).
- [21] PROMPERÚ, "Informe Especializado: El mercado internacional de colorantes naturales para alimentos," *Dep. Intel. Mercados*, pp. 1–4, 2016.
- [22] H. Benefits, *Fruits: A source of polyphenols and and Health Benefits*. Elsevier Inc., 2018.
- [23] N. Viquez, "Estructura de las antocianinas," *Factores que Afect. los Extr. Veg.*, 1999, [Online]. Available: [http://catarina.udlap.mx/u\\_dl\\_a/tales/documentos/lqf/sordo\\_s\\_jp/capitulo3.pdf](http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lqf/sordo_s_jp/capitulo3.pdf).
- [24] I. I. Muhamad *et al.*, *Advanced Natural Food Colorant Encapsulation Methods: Anthocyanin Plant Pigment*. 2012.
- [25] M. Aguilera-Otíz, M. del C. Reza-Vargas, R. G. Chew-Madinaveita, and J. A. Meza-Velázquez, "Propiedades Funcionales De Las Antocianinas," *Biotecnia*, vol. 13, no. 2, p. 16, 2011, doi: 10.18633/bt.v13i2.81.
- [26] J. Guillén-Sánchez, S. Mori-Arismendi, and L. M. Paucar-Menacho, "Características y propiedades funcionales del maíz morado (*Zea mays* L.) var. subnigroviolaceo," *Sci. Agropecu.*, pp. 211–217, 2010, doi: 10.17268/sci.agropecu.2014.04.05.
- [27] T. P. Devi, S. Kavitha, R. Y. Kannah, M. Rajkumar, and J. R. Banu, *Specialty chemicals and nutraceuticals production from food industry wastes*. INC, 2020.
- [28] L. Catalán, "Extracción y caracterización del b-caroteno obtenido de la cáscara de banano (*Musa paradisíaca* L.) evaluando el rendimiento de tres diferentes solventes de distinta polaridad para su utilización como colorante natural, a escala laboratorio," *Univ. San Carlos Guatemala*, 2016.
- [29] A. Schieber and F. Weber, "Carotenoids," *Handb. Nat. Pigment. Food Beverages Ind. Appl. Improv. Food Color*, pp. 101–123, 2016, doi: 10.1016/B978-0-08-100371-8.00005-1.
- [30] J. Nagarajan, R. N. Ramanan, M. E. Raghunandan, C. M. Galanakis, and N. P. Krishnamurthy, *Carotenoids*. Elsevier Inc., 2017.
- [31] A. J. Meléndez Martínez, I. Vicario Romero, and F. J. Heredia Mira, "Estabilidad de

- los pigmentos carotenoides en los alimentos,” 2004.
- [32] S.-H. Cheng, H. E. Khoo, K. W. Kong, K. N. Prasad, and C. M. Galanakis, *Extraction of carotenoids and applications*. Elsevier Inc., 2020.
- [33] G. Ramírez, “Expresión analítica de los componentes de los alimentos,” *Univ. Antioquía*, pp. 2–30, 2008, [Online]. Available: [http://aprendeonline.udea.edu.co/lms/moodle/file.php/424/Notas\\_de\\_Expresion\\_analitica\\_de\\_los\\_componentes\\_de\\_los\\_alimentos\\_2008.pdf](http://aprendeonline.udea.edu.co/lms/moodle/file.php/424/Notas_de_Expresion_analitica_de_los_componentes_de_los_alimentos_2008.pdf).
- [34] D. Otálora, “Evaluación de la factibilidad Técnico-Financiera para el proceso de extracción de B-Caroteno partiendo de desechos de Zanahoria Variedad Chantenay (*Daucus Carota L.*),” *Fund. Univ. América*, vol. 22, pp. 1–8, 2019.
- [35] L. F. Serna and S. Lopez, “Actualización del manual del laboratorio de análisis de alimentos del programa de tecnología química de la universidad tecnológica de Pereira,” *J. Chem. Inf. Model.*, vol. 53, no. 9, pp. 1689–1699, 2013.
- [36] S. Castillo, “Ensayo Preliminar Para La Obtención De Colorantes Naturales a Partir De Especies Vegetales Comestibles,” pp. 1–174, 2006, [Online]. Available: <http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/4989/1/16100351.pdf>.
- [37] S. C. Mandal, V. Mandal, and A. K. Das, *Classification of Extraction Methods*. 2015.
- [38] J. C. Hogervorst, U. Miljić, and V. Puškaš, *Extraction of Bioactive Compounds from Grape Processing By-Products*. 2017.
- [39] J. Enrique *et al.*, “Pulverización de colorantes naturales por secado por atomización,” *Cuad. Investig.*, vol. 0, no. 33, 2012.
- [40] C. Catania and S. Avagnina, “La maduración de la uva,” *Curso Super. Degustación Vinos*, pp. 1–14, 2007.
- [41] L. Alberca, S. Carrero, and R. Flores, “Condiciones favorables para la extracción de antocianinas a partir de la sachapapa morada (*Dioscorea trifida L*) mediante un equipo soxhlet,” p. 99, 2017.
- [42] I. B. de Ramirez, *Análisis de alimentos*. 1998.
- [43] E. Gutiérrez, T. La, and G. Pascual, “Caracterización de cáscara de mandarina (*Citrus reticulata*) en polvo e inclusión en una formulación panaria,” vol. 34, no. October, pp. 776–778, 2016, doi: 10.15446/agron.colomb.sup.2016n1.57938.
- [44] E. Gutiérrez, “Elaboración de panes con fibra dietaria por adición de bagazo de

- manzana (*Malus domestica*) y mandarina (*Citrus reticulata*) en polvo.,” no. May, 2016, doi: 10.13140/RG.2.1.4218.2000.
- [45] M. Ramos, E. Bautista, V. Cortes, A. Ramírez, and O. Osorio, “Obtención de un polvo para preparar gelatina a partir de mandarina (*Citrus reticulata*).,” 2010.
- [46] L. Soto, M. Berradre, J. Ortega, J. Ortega, B. Sulbarán, and G. Ojeda, “Optimización de las condiciones de extracción de compuestos fenólicos en el extracto de orujo de una variedad malvasía.,” vol. 3, no. 3, pp. 19–35, 2018.
- [47] F. Peralta, E. J. Maldonado, and M. I. Centeno, “Manual de prácticas de los laboratorios de alimentos,” *Dríos*, p. 61, 2015, [Online]. Available: [http://www.archivos.ujat.mx/2015/div\\_rios/MP-DAMR-LBR-R01.pdf](http://www.archivos.ujat.mx/2015/div_rios/MP-DAMR-LBR-R01.pdf).
- [48] Unam, “Fundamentos Y Tecnicas Analisis De Alimentos,” p. 58, 2008.
- [49] A. Mieres Pitre, A. Andrade, L. García, and P. Londoño, “Desarrollo de una galleta a partir del orujo de uva variedad criolla negra.,” *An. la Univ. Metrop.*, vol. 11, no. 2, pp. 191–205, 2011.
- [50] E. Gutiérrez, G. Medina, M. Roman, O. Flórez, and O. Martínez, “Obtención y cuantificación de fibra dietaria a partir de residuos de algunas frutas comunes en Colombia,” *Vitae (Medellín)*, pp. 5–14, 2002.
- [51] S. Badui, *Química de los alimentos*. 2006.
- [52] L. M. Zapata, “Obtención de extracto de Antocianinas a partir de arándanos para ser utilizado como antioxidante y colorante en la industria alimentaria,” *Univ. Politécnica Val.*, pp. 1–248, 2014, [Online]. Available: [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%203%20Tesis%20Luz%20Marina%20Zapata.pdf?sequence=21).
- [53] X. Herrera and K. Rodriguez, “Evaluación del extracto de flavonoles y antocianinas contenidos en el agraz (*Vaccinium Meridionale Swartz*) obtenidos a nivel laboratorio por medio de los métodos de extracción por solventes y extracción asistida por microondas.,” *Fund. Univ. América*, no. May, pp. 31–48, 2016.
- [54] I. F. Strati and V. Oreopoulou, “Effect of extraction parameters on the carotenoid recovery from tomato waste,” *Int. J. Food Sci. Technol.*, vol. 46, no. 1, pp. 23–29, 2011, doi: 10.1111/j.1365-2621.2010.02496.x.
- [55] R. Beltrán, “Obtención de un colorante de maracuyá a partir de su corteza,” *Water*

- Sci. Technol.*, vol. 53, no. January, pp. 304–313, 2017, doi: 10.1017/CBO9781107415324.004.
- [56] I. F. Strati and V. Oreopoulou, “Recovery of carotenoids from tomato processing by-products - A review,” *Food Res. Int.*, vol. 65, no. PC, pp. 311–321, 2014, doi: 10.1016/j.foodres.2014.09.032.
- [57] A. L. y A. Muñoz, “Evaluación de la viabilidad técnico financiera para la obtención de un colorante natural partiendo del residuo de mora de castilla (*Rubus Glaucus Benth*) para la aplicación en la industria de alimentos,” *Fund. Univ. América*, vol. 24, no. 4, pp. 233–244, 2019, doi: 10.1145/1390630.1390641.
- [58] N. del S. Martínez *et al.*, “Antocianinas y actividad anti radicales libres de *rubus adenotrichus* Schltld (zarzamora),” *Rev. Mex. Ciencias Farm.*, vol. 42, no. 4, pp. 66–71, 2011.
- [59] P. Noriega Rivera, P. Coba Santamaría, J. Naikiai, and J. Abad, “Extracción, pruebas de estabilidad y análisis químico preliminar de la fracción colorante obtenido a partir del exocarpo del fruto de *Renealmia Alpinia*,” *La Granja*, vol. 13, no. 1, p. 13, 2011, doi: 10.17163/lgr.n13.2011.02.
- [60] J. T. Burgos and F. R. Calderon, “Determinacion del contenido de carotenoides totales en ocho especies de frutas y verduras comercializadas en la zona metropolitana de San Salvador.,” *J. Chem. Inf. Model.*, p. 110, 2009.
- [61] W. Jeffrey Hurst, “Methods of analysis for functional foods and nutraceuticals,” *Methods of Analysis for Functional Foods and Nutraceuticals*. pp. 1–400, 2002, doi: 10.1201/9781420014679.
- [62] A. Camacho, M. Giles, A. Ortegón, M. Palao, and B. Serrano, “Técnicas para analisis microbiológico,” pp. 1–17, 2009, [Online]. Available: [http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/TecnicBasicas-Colif-tot-fecales-Ecoli-NMP\\_6529.pdf](http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/TecnicBasicas-Colif-tot-fecales-Ecoli-NMP_6529.pdf).
- [63] 3M™, “Placas Petrifilm™ para el Recuento de *E. coli*/Coliformes,” vol. 41, no. 22, pp. 13253–13259, 2017, doi: 10.1039/c7nj02553j.
- [64] 3M™, “Placa Petrifilm MR para recuento total de Coliformes.”
- [65] 3M™, “Guia de interpretación de Recuento de Mohos y Levaduras.”
- [66] G. A. Garzón, “Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos

- bioactivos: revisión,” *Acta Biol. Colomb.*, vol. 13, no. 3, pp. 27–36, 2008.
- [67] H. Kläui and J. C. Bauernfeind, *Carotenoids As Food Colors*. 1981.

## GLOSARIO

**ABSORBANCIA:** Señal de respuesta arrojada por la lectura espectrofotométrica referente a la cantidad de intensidad luz absorbida por la sustancia.

**ANTOCIANINAS:** Pigmentos solubles en agua que se hallan en las células vegetales y que otorgan el color rojo, púrpura o azul a las hojas, flores y frutos.

**CAROTENOIDES:** Pigmento natural encargado de otorgar color amarillo, rojo o naranja a plantas, frutos, granos y aceites; sirve como antioxidante y un tipo de provitamina.

**CHALCONA:** Flavonoides que difieren de su estructura base, cetonas aromáticas que forman un núcleo central dando origen a variedad de compuestos biológicos, que brindan colores como el amarillo.

**COLORANTE:** Sustancia soluble en agua, capaz de teñir o dar color a un tejido, alimento, cosmético o fármaco; puede ser de origen natural o sintético.

**DESPLAZAMIENTO BATOCRÓMICO:** Fenómeno que se verifica cuando la longitud de onda de absorción de una sustancia se desplaza hacia longitudes de onda más grandes o de menor energía por efecto del solvente.

**DESPLAZAMIENTO HIPSOCRÓMICO:** Fenómeno producido por el cambio de la posición de las bandas espectrales del espectro de absorción, de transmitancia, reflectancia o de emisión de una molécula hacia una longitud de onda más corta.

**EPICARPIO:** Forma la epidermis protectora del fruto, comúnmente se denomina piel o cáscara.

**ESPECTROFOTOMETRÍA:** Técnica de cuantificación de compuestos químicos presentes en soluciones, basada en la relación de la absorción de la luz a diferentes longitudes de onda por parte del compuesto y su concentración.

**EXTRACCIÓN:** Procedimiento convencional utilizado para la separación de un compuesto orgánico de una mezcla sólida o líquida, aprovechando la diferencia de solubilidades mediante la adición de un disolvente.

**HOLLEJO:** Piel delgada que recubre el grano y la pulpa, bagazo que queda después del prensado de las uvas.

**ISOMERIZACIÓN:** Proceso químico mediante el cual una molécula se transforma a otra alterando el arreglo de átomos de forma distinta.

**ORUJO:** Subproducto de la fabricación de vino constituido por una mezcla de pulpa, cáscara, semillas y tallos de la uva.

**PIGMENTO:** Sustancia insoluble o con alto grado de insolubilidad en el medio que se utiliza para su aplicación. Referente a los aditivos de origen natural presentes en tejidos y células vegetales, animales o de origen mineral.

**POLIFENOLES:** Compuestos de origen vegetal con propiedades antioxidantes presentes en variedad de frutas y verduras.

**SOLVENTE:** Sustancia en la que se disuelve un soluto para generar una solución química; generalmente, el solvente es el componente que se encuentra en mayor proporción.

# **ANEXOS**



**ANEXO 1.**  
**RECOMENDACIONES**

Validar la aplicación de otros métodos de extracción no convencionales para evaluar y comparar el rendimiento de los colorantes obtenidos.

Rectificar los resultados obtenidos mejorando su precisión y controlando de manera exacta las variables críticas del proceso con el uso de equipos apropiados, como el rotaevaporador.

Implementar técnicas de cuantificación de los compuestos bioactivos más rigurosas, como el proceso HPLC, que permitan el aislamiento e identificación de las antocianinas y carotenoides presentes en el extracto.

Evaluar la aplicación y estabilidad de los colorantes naturales obtenidos en un producto de la industria de alimentos.

Realizar una evaluación técnico-financiera para el proceso de extracción seleccionado para la producción de colorante natural a escala piloto o industrial, con el fin de verificar el proceso de producción y su viabilidad financiera.

**ANEXO 2.**  
**MUESTRA DE CÁLCULO PARA EL RENDIMIENTO DE LAS EXTRACCIONES**

De acuerdo a las siguientes ecuaciones, se calculó la densidad de los extractos según los datos experimentales tomados en el laboratorio, para luego hallar el rendimiento de las extracciones. La siguiente muestra de cálculo se realizó para la extracción de colorante a partir de la cáscara de mandarina.

**Ecuación 8.**  $Masa\ extracto = 8.7659\text{ g} - 6.8555\text{ g} = 1.9104\text{ g}$

**Ecuación 9.**  $Masa\ agua = 9.1755\text{ g} - 6.9015\text{ g} = 2.2740\text{ g}$

**Ecuación 10.**  $V(mL) = \frac{2.2740\text{ g}}{1\frac{\text{g}}{\text{mL}}} = 2.2740\text{ mL}$

**Ecuación 11.**  $\rho_{EX}(\frac{\text{g}}{\text{mL}}) = \frac{1.9104\text{ g}}{2.2740\text{ mL}} = 0.8401\frac{\text{g}}{\text{mL}}$

**Ecuación 6.**  $W_0 = 0.8401\frac{\text{g}}{\text{mL}} * 8.2\text{ mL} = 6.8888\text{ g}$

**Ecuación 7.**  $\% \text{ Rendimiento} = \frac{6.8888\text{ g}}{9.6770\text{ g}} * 100 = 71.1875\%$

**ANEXO 3.**  
**LECTURA DE ABSORBANCIAS PARA EL EXTRACTO DE UVA**

Las siguientes son las lecturas de absorbancia tomadas a ciertas longitudes de onda determinadas a pH 1 y pH 4.5 para las extracciones de colorante a partir del hollejo de uva.

Longitud de onda	pH 1	pH 4.5
	Absorbancia	Absorbancia
500	0,129	0,106
510	0,132	0,106
520	0,136	0,107
530	0,139	0,107
540	0,140	0,107
550	0,139	0,108
560	0,133	0,107
570	0,126	0,107
580	0,118	0,107
590	0,110	0,106
600	0,107	0,105
700	0,105	0,104

**ANEXO 4.**  
**LECTURA DE ABSORBANCIAS PARA EL EXTRACTO DE MANDARINA**

Las siguientes son las lecturas de absorbancia tomadas a ciertas longitudes de onda determinadas para las extracciones de colorante a partir de la cáscara de mandarina.

<b>Longitud de onda</b>	<b>Absorbancia</b>
325	1,055
330	1,134
340	1,060
350	0,807
360	0,552
370	0,379
380	0,278
390	0,236
400	0,230
420	0,246
440	0,242
460	0,206
480	0,137
500	0,087
520	0,065
540	0,055
560	0,050
580	0,047
600	0,045

**ANEXO 5.**  
**MUESTRA DE CÁLCULO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE ANTOCIANINAS**

De acuerdo a las siguientes ecuaciones, se cuantificó la cantidad de antocianinas monoméricas y totales para las extracciones de colorante a partir del hollejo de uva.

**Ecuación 16.**  $A = (0.140 - 0.105)_{pH1} - (0.107 - 0.104)_{pH4.5} = 0.032$

**Ecuación 17.**  $Antocianinas\ monoméricas = \frac{0.032 * 449.6 \frac{g}{mL} * 40 * 1000}{26900 * 1\ cm} = 21.2041 \frac{mg}{100\ g}$

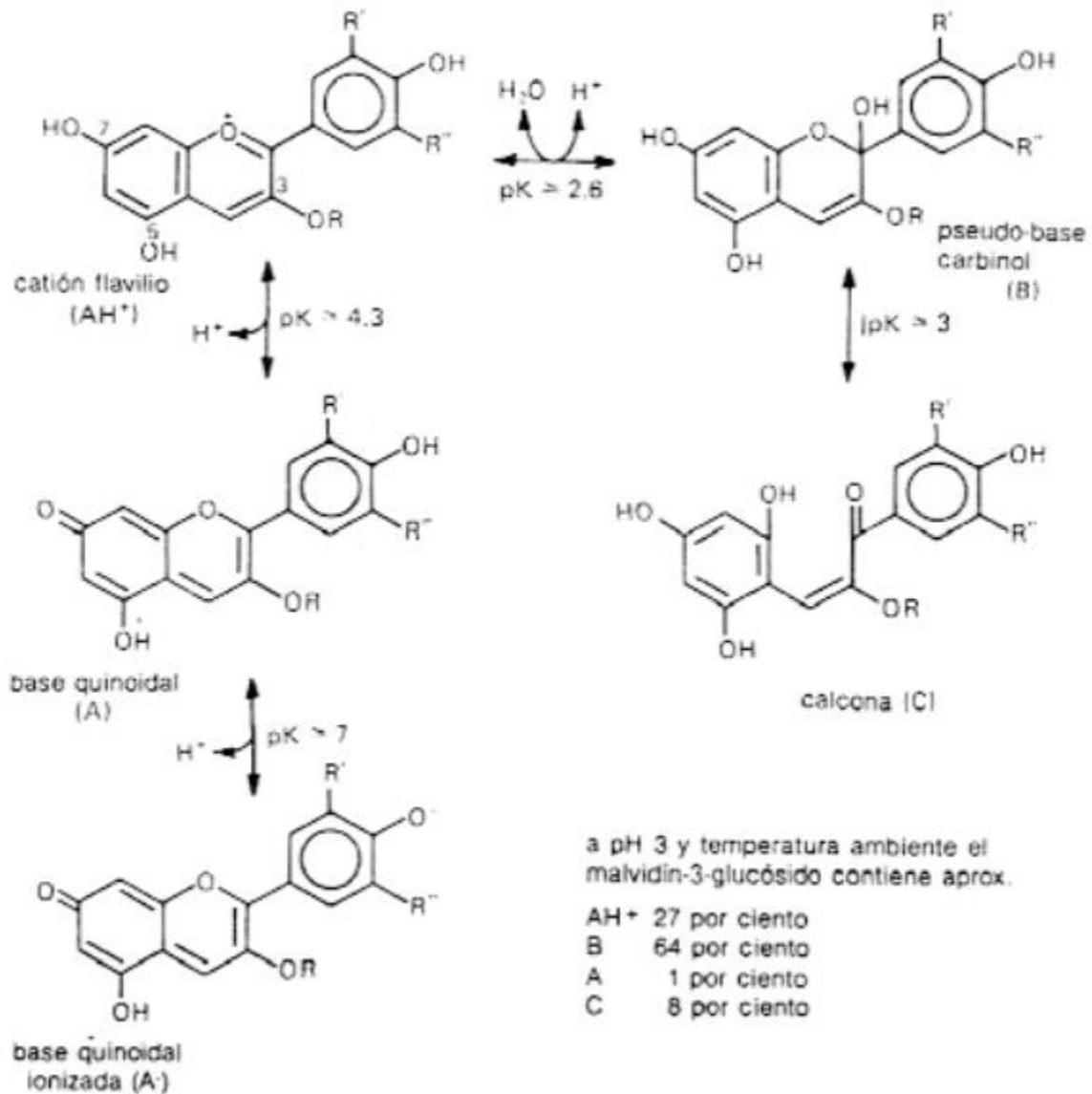
**Ecuación 18.**  $Antocianinas\ totales = \frac{(0.140 - 0.105)_{pH1} * 449.6 \frac{g}{mL} * 40 * 1000}{26900 * 1\ cm} = 23.3993 \frac{mg}{100\ g}$

**ANEXO 6.**  
**MUESTRA DE CÁLCULO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE CAROTENOIDES**

De acuerdo a la siguiente ecuación, se cuantificó la cantidad de carotenoides totales para las extracciones de colorante a partir de la cáscara de mandarina.

**Ecuación 19.**  $Carotenoides\ totales = \frac{1.139 * 250\ mL * 10^6}{2500 * 100} = 1139 \frac{\mu g}{100g}$

**ANEXO 7.**  
**ESTRUCTURA DE LAS ANTOCIANINAS A DIFERENTES VALORES DE pH.**



**Nota.** G. A. Garzón, "Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión," *Acta Biol. Colomb.*, vol. 13, no. 3, pp. 27–36, 2008.