



**FACULTAD DE INDUSTRIAS AGROPECUARIAS Y CIENCIAS  
AMBIENTALES**

**ESCUELA DE DESARROLLO INTEGRAL AGROPECUARIO**

Tema: “Evaluación del pigmento obtenido de la semilla de dos variedades de aguacate (*Persea americana* var. *Hass* y *Persea americana* var. *Fuerte*) como alternativa de uso en la industria de alimentos.”

Trabajo de titulación previo la obtención del título de  
Ingeniero en Desarrollo Integral Agropecuario

AUTOR: Marco Javier Revelo Guaña

ASESOR: Msc. Carlos Rivas

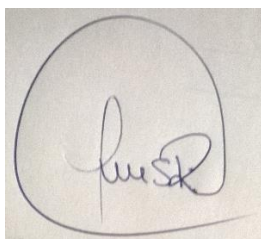
TULCÁN - ECUADOR

AÑO: 2016

## CERTIFICADO.

Certifico que el estudiante Marco Javier Revelo Guaña con el número de cédula 040122177-5 ha elaborado bajo mi dirección la sustentación de grado titulada: “Evaluación del pigmento obtenido de la semilla de dos variedades de aguacate (*Persea americana* var. *Hass* y *Persea americana* var. *Fuerte*) como alternativa de uso en la industria de alimentos.”

Este trabajo se sujeta a las normas y metodología dispuesta en el reglamento de Grado del Título a Obtener, por lo tanto, autorizo la presentación de la sustentación para la calificación respectiva.



---

Msc. Carlos Rivas  
Tulcán, abril de 2016

## AUTORÍA DE TRABAJO.

El presente trabajo de titulación constituye requisito previo para la obtención del título de Ingeniero en Desarrollo Integral Agropecuario de la Facultad de Industrias Agropecuarias y Ciencias Ambientales

Yo, Marco Javier Revelo Guaña con cédula de identidad número 040122177-5 declaro: que la investigación es absolutamente original, autentica, personal y los resultados y conclusiones a los que he llegado son de mi absoluta responsabilidad.



f.....  
Marco Javier Revelo Guaña

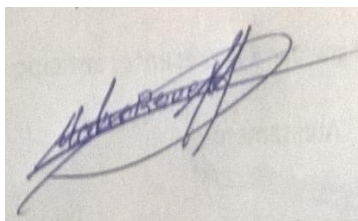
Tulcán, abril de 2016

## **ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS DEL TRABAJO DE TITULACIÓN.**

Yo Marco Javier Revelo Guaña, declaro ser autor del presente trabajo y eximo expresamente a la Universidad Politécnica Estatal del Carchi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Adicionalmente declaro conocer y aceptar la resolución del Consejo de Investigación de la Universidad Politécnica Estatal del Carchi de fecha 21 de junio del 2012 que en su parte pertinente textualmente dice: "Forman parte del patrimonio de la Universidad Politécnica Estatal del Carchi, la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y trabajos de titulación que se realicen a través o con el apoyo financiero, académico o institucional de la Universidad".

Tulcán, abril de 2016



---

Marco Javier Revelo Guaña  
C.I. 040122177-5

## **AGRADECIMIENTO.**

Infinitas gracias para mi Dios todo poderoso, por ser esa luz que guía mi camino siempre en forma positiva y fortalecer mi espíritu para mi superación diaria. Por llenarme de vida y salud, para así poder culminar con mucho éxito una de mis varias metas propuestas.

A mis padres y hermanos que siempre estuvieron junto a mí en los momentos buenos y no tan buenos, brindándome sus sabios consejos para de esta manera seguir adelante pese a cualquier obstáculo que se presente, con el fin de superarlo, aprender de él y aprovecharlo al máximo a mi favor sin hacer mal a nada ni nadie.

Agradezco de una forma muy especial, a la UPEC casona del saber que abrió sus puertas para impartir sabios conocimientos a jóvenes que confiamos en la misma.

A los docentes y compañeros, con quienes se compartió muchas experiencias académicas y personales. Los cuales con sus sabios consejos y apoyo incondicional me motivaron día a día y me ayudaron a obtener una excelente formación profesional y personal.

## **DEDICATORIA.**

Dedico esta meta cumplida a Dios, porque bendice cada día de mi vida y está conmigo en cada paso que doy, protegiéndome y brindándome fortaleza para seguir adelante.

Este triunfo también va dedicado a mis padres y hermanos, por ser mi mayor motivación y apoyarme en cada paso que doy, sea para mi superación académica o personal.

A mis compañeros, por ser un pilar importante en este logro, ya que fueron las personas con quienes se compartió toda esta experiencia universitaria y con quienes desde el primer día se luchó por cumplir esta meta.

## ÍNDICE GENERAL

CERTIFICADO.....	I
AUTORÍA DE TRABAJO.....	II
ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS DEL TRABAJO DE TITULACIÓN.....	III
AGRADECIMIENTO.....	IV
ÍNDICE GENERAL.....	VI
RESUMEN EJECUTIVO.....	XIII
ABSTRACT.....	XIV
INTRODUCCIÓN.....	XV
1. EL PROBLEMA.....	1
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	1
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	2
1.3. DELIMITACIÓN.....	2
1.4. JUSTIFICACIÓN.....	3
1.5. OBJETIVOS.....	4
1.5.1. Objetivo General.....	4
1.5.2. Objetivos Específicos.....	4
2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	5
2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.....	5
2.2. FUNDAMENTACIÓN LEGAL.....	6
2.3. FUNDAMENTACIÓN FILOSÓFICA.....	9
2.4. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICA.....	9
2.4.1. El Aguacate.....	9
2.4.2. Aditivos Alimentarios.....	21
2.4.3. Colorantes.....	22

2.4.4. Dosis recomendadas de colorantes naturales .....	27
2.4.5. Extracción de colorantes .....	28
2.5. VOCABULARIO TÉCNICO .....	30
2.6. HIPÓTESIS .....	31
2.6.1. Hipótesis Alternativa (Ha) .....	31
2.6.2. Hipótesis Nula (Ho) .....	31
2.7. VARIABLES .....	32
2.7.1. Dependiente: .....	32
2.7.2. Independiente: .....	32
3. METODOLOGÍA.....	33
3.1. MODALIDAD DE LA INVESTIGACIÓN.....	33
3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	33
3.3. POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN.....	34
3.4. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES .....	35
3.5. RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN .....	37
3.5.1. Información Bibliográfica .....	37
3.5.2. Información Procedimental .....	37
3.5.3. Factores de estudio.....	40
3.5.4. Tratamientos en estudio .....	40
3.5.5. Diseño Experimental.....	41
3.5.6. Variable a evaluar.....	42
3.5.7. Métodos Específicos del Manejo del Ensayo .....	43
3.5.8. Proceso de obtención del colorante de la semilla de aguacate, variedades ( <i>Persea americana</i> var. Hass y <i>Persea americana</i> var. Fuerte) .....	45

3.5.9. Proceso para evaluar las propiedades físico-químicas del yogurt coloreado con el pigmento extraído. ....	49
3.6. PROCESAMIENTO, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	50
3.6.1. Análisis de resultados.....	50
3.6.2. Verificación de Hipótesis .....	62
4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES. ....	63
4.1. Conclusiones .....	63
4.2. Recomendaciones .....	64
5. Bibliografía.....	65
6. ANEXOS.....	68

### INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1:</b> Clasificación botánica de Persea americana.....	10
<b>Tabla 2:</b> Análisis del contenido de 100 g de pulpa de aguacate .....	11
<b>Tabla 3:</b> Contenido de vitaminas y ácidos grasos .....	11
<b>Tabla 4:</b> Análisis proximal de la semilla de aguacate variedad Hass .....	20
<b>Tabla 5:</b> Análisis fotoquímico de la semilla de aguacate variedad Hass .....	20
<b>Tabla 6:</b> Distribución de tratamientos y repeticiones para concentraciones de colorante de semilla de aguacate (Persea americana var. Hass y Persea americana var. Fuerte) en yogurt natural. ....	34
<b>Tabla 7:</b> Operacionalización de Variables.....	35
<b>Tabla 8:</b> Rendimientos en la extracción del colorante de la semilla de aguacate (Persea americana var. Hass y Persea americana var. Fuerte) .....	38
<b>Tabla 9:</b> Distribución de muestras para el análisis de estabilidad .....	39

<b>Tabla 10:</b> Factores en estudio .....	40
<b>Tabla 11:</b> Características del ensayo.....	41
<b>Tabla 12:</b> Formulación para obtención de colorante de la semilla de aguacate variedades Hass y Fuerte .....	44
<b>Tabla 13:</b> Formulación para T1, T2 y T3.....	44
<b>Tabla 14:</b> Análisis físico-químico de la materia prima semilla molida de aguacate .....	50
<b>Tabla 15:</b> Promedios (%), obtenidos en el análisis de estabilidad del pigmento ..	52
<b>Tabla 16:</b> Prueba de Tukey al 5 % para el porcentaje de pigmento retenido .....	52
<b>Tabla 17:</b> Porcentaje de colorante retenido por días respecto al pH.....	53
<b>Tabla 18:</b> Prueba de Tukey al 5 % para el porcentaje de pigmento retenido respecto a la temperatura .....	53
<b>Tabla 19:</b> Porcentaje de colorante retenido por días respecto a la temperatura ..	53
<b>Tabla 20:</b> Prueba de Tukey al 5 % para el porcentaje de pigmento retenido respecto a la exposición .....	54
<b>Tabla 21:</b> Porcentaje de colorante retenido por días respecto a la exposición.....	54
<b>Tabla 22:</b> Prueba de Tukey al 5 % para el porcentaje de colorante retenido para la interacción pH vs Temperatura .....	55
<b>Tabla 23:</b> Prueba de Tukey al 5 % para el porcentaje de colorante retenido para la interacción Exposición vs Temperatura.....	55
<b>Tabla 24:</b> Prueba de Tukey al 5 % para el porcentaje de colorante retenido para la interacción Exposición, pH y Temperatura. ....	56
<b>Tabla 25:</b> ADEVA D.C.A., grados de libertad de la investigación.....	57

<b>Tabla 26:</b> ADEVA para solidos solubles de Yogurt coloreado con colorante de la semilla de dos variedades de aguacate Has y Fuerte .....	57
<b>Tabla 27:</b> Prueba de Tukey al 5 % para sólidos solubles de Yogurt coloreado con colorante de semillas de dos variedades de aguacate Hass y Fuerte .....	58
<b>Tabla 28:</b> ADEVA para la acidez de Yogurt coloreado con colorante de la semilla de dos variedades de aguacate Hass y Fuerte .....	58
<b>Tabla 29:</b> Prueba de Tukey al 5 % para acidez de Yogurt coloreado con colorante de la semilla de dos variedades de aguacate Hass y Fuerte .....	59
<b>Tabla 30:</b> ADEVA para pH de Yogurt coloreado con colorante de la semilla de dos variedades de aguacate Hass y Fuerte .....	59
<b>Tabla 31:</b> Prueba de Tukey al 5 % para pH de Yogurt coloreado con colorante de la semilla de dos variedades de aguacate Hass y Fuerte .....	60
<b>Tabla 32:</b> Costos Variables de producción de colorante de la semilla de aguacate para la cantidad obtenida de 57,01 g .....	61
<b>Tabla 33:</b> Costos Fijos de producción de colorante de la semilla de aguacate para la cantidad obtenida de 57,01 g .....	61
<b>Tabla 34:</b> Costo final de colorante de la semilla de aguacate para la cantidad obtenida de 57,01 g .....	61

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Clasificación de los aditivos alimentarios.....	22
<b>Figura 2:</b> Características de un colorante y un pigmento.....	24
<b>Figura 3:</b> Clasificación según sus propiedades físicas .....	25
<b>Figura 4:</b> Clasificación según sus características químicas .....	26

**Figura 5:** Clasificación según sus propiedades químicas ..... 27

**Figura 6:** Flujograma del proceso de extracción de colorante natural a partir de la semilla de aguacate variedades Hass y Fuerte utilizando alcohol 90° – Ácido Cítrico 0.03% (p/v) ..... 46

## INDICE DE ANEXOS

**Anexo 1:** Semilla y cascara de aguacate, variedades Hass y Fuerte, desecho de la industria. .... 68

**Anexo 2:** Semilla de aguacate..... 68

**Anexo 3:** Determinación del porcentaje de etanol ..... 69

**Anexo 4:** Semilla molida de aguacate en solución de Etanol 90° y ácido cítrico.. 69

**Anexo 5:** Filtrado de la solución que contiene a la semilla molida de aguacate... 70

**Anexo 6:** Rotavaporación para eliminar la parte alcohólica ..... 70

**Anexo 7:** Secado final del colorante obtenido del Rotavapor..... 71

**Anexo 8:** Colorante obtenido de la semilla de aguacate variedades Hass y Fuerte.  
..... 71

**Anexo 9:** Muestras para análisis de estabilidad..... 72

**Anexo 10:** Muestras en oscuridad y al ambiente ..... 72

**Anexo 11:** Muestras en refrigeración 4 C ..... 73

**Anexo 12:** Muestras al ambiente y a la luz ..... 73

**Anexo 13:** Preparación de las cubetas ..... 74

**Anexo 14:** Toma de datos en el espectrofotómetro ..... 74

<b>Anexo 15:</b> Medición de pH .....	75
<b>Anexo 16:</b> Medición de sólidos solubles.....	75
<b>Anexo 17:</b> Medición de Acidez .....	76
<b>Anexo 18:</b> Resultado del análisis físico-químico de la semilla molida de aguacate variedades Hass y Fuerte .....	77
<b>Anexo 19:</b> NTE INEN 2395:2011.....	78

## RESUMEN EJECUTIVO

En este trabajo investigativo se utilizó como materia prima la semilla de dos variedades de aguacate, (*Persea americana* var. Hass y *Persea americana* var. Fuerte), las cuales poseen antocianinas y que actualmente no son utilizadas en la industria alimentaria de la provincia del Carchi. El proceso constó de las siguientes etapas; la extracción, análisis, evaluación y la aplicación del colorante en Yogurt Natural, para la extracción se utilizó como solvente una solución alcohólica acidificada (etanol 90° – ácido cítrico al 0.03%) (Menéndez, 2008) citado por (Cano, 2011). La materia prima fue sometida a los procesos de secado y molienda para optimizar tiempo y aprovechar la materia prima en su totalidad.

Una vez que se pudo obtener el colorante natural, la estabilidad fue evaluada en distintas condiciones como: pH (4, 5, 6), temperatura (4 y 14 °C) y exposición a la luz y oscuridad. Las condiciones que mostraron una mayor retención en el análisis espectrofotométrico fueron pH entre 4 y 5, temperatura entre 4 y 14 °C, y condiciones de oscuridad.

Se evaluó la posibilidad de tinción en Yogurt Natural, así se realizó pruebas con diferentes dosificaciones de concentración de colorante (3, 5, 7 ml de colorante / L de Yogurt Natural), además, se realizó un análisis físico-químico al yogurt de durazno adicionado el colorante de la semilla de dos variedades de aguacate (*Persea americana* var. Hass y *Persea americana* var. Fuerte), durante 30 días habiendo dejado las muestras en refrigeración a una temperatura de 5 °C, en este tiempo se realizó una toma semanal de cada tratamiento mediante los siguientes datos: pH, acidez y sólidos solubles. Se pudo establecer la efectividad de la tinción del colorante extraído, utilizando una dosis de 7 ml de colorante / L de Yogurt, el cual fue comparado con una muestra de yogurt de durazno comercial.

**Palabras clave:** antocianinas, tinción, colorante, espectrofotométrico

## ABSTRACT

### ABSTRACT

In this research paper, raw material as the seed of two varieties of avocado was used (*Persea americana* var. Hass and *Persea americana* var. Fuerte), which have anthocyanins and currently are not used in the food industry in the province of Carchi. The process consisted of the following stages; extraction, analysis, evaluation and application of the dye in Natural Yogurt, the extraction was made with an acidified alcoholic solution as solvent (ethanol 90th - 0.03% citric acid) (Menendez, 2008) cited by (Cano, 2011). The raw material was exposed to a drying and milling process to optimize and exploit the raw material in its totality.

After obtaining the natural dye, the stability was evaluated under various conditions like: pH (4, 5, 6), temperature (4 and 14 °C) and exposure to light and darkness. The conditions that showed a higher retention for spectrophotometric analysis were: pH 4-5, temperature of 4 and 14 °C, and keeping the pigment in dark conditions.

The possibility of staining in natural yoghurt was assessed, tests with different dosages of dye concentration (3, 5, 7 ml dye / L yogurt) were made, also, the physical-chemical analysis to the yogurt peach was established adding the avocado dye-seed two-varieties (*Persea americana* var. Hass and *Persea americana* var. Fuerte), for 30 days having left the samples refrigerated at 5 °C of temperature, a weekly sample was taken for each treatment by the following data: pH, acidity and soluble solids. It was possible to establish the effectiveness of extracted dye staining, using a dose of 7 ml of dye / L of Yogurt, which was compared with a sample of commercial peach yogurt.

**Keywords:** anthocyanins, staining, dye, spectrophotometric

## INTRODUCCIÓN

El color de los alimentos es definitivamente muy importante para el consumidor, ya que, siendo el primer contacto visual que tiene con ellos, es determinante para que un comestible sea aceptado o rechazado. La homogeneidad del color de los productos durante el tiempo de vida útil es fundamental. Por esta razón, existen en el mercado diversos agentes químicos que sirven para colorear; básicamente hay de dos tipos: los naturales y los sintéticos. Entre los primeros destacan carotenoides, betalaína, clorofila y ácido carmínico, así como el caramelo; todos estos provienen de fuentes naturales (Badui, 1993). Con la presente investigación se logró la extracción de una alternativa de colorante natural de la semilla de dos variedades de aguacate (*Persea americana* var. Hass y *Persea americana* var. Fuerte), la cual fue realizada en el laboratorio, para su posterior aplicación en yogurt de durazno.

Por otra parte, muchos investigadores tienen interés en los pigmentos antociánicos gracias a sus posibles efectos terapéuticos y benéficos, dentro de los cuales se encuentra los efectos anticancerígenos, antitumorales, antidiabéticos, antioxidante, etc. Estas propiedades han permitido abrir una nueva perspectiva para la obtención de productos coloreados con valor agregado para el consumo humano (Garzón, 2008). La presente investigación busca sustituir el uso de colorantes artificiales, por naturales, ya que en la actualidad existe un gran interés por conseguir productos naturales que aporten y contribuyan a mantener y corregir los defectos alimenticios dentro de la población.

# **1. EL PROBLEMA**

## **1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Actualmente en Ecuador se observa una mayor preocupación en la alimentación de niños y jóvenes ya sea en los hogares, instituciones educativas, o en muchos otros lugares, en donde el consumo de alimentos provenientes de la industria alimentaria, es elevado. El gobierno ha priorizado este asunto en elementos legales que permitan regular el consumo de algunos productos alimenticios en bares de escuelas y colegios, incluso prohibiendo la venta de algunos alimentos que podrían originar problemas en la salud de quienes los consuman, problemas que pueden hacerse evidentes ya sea a mediano o largo plazo, debido al tipo de insumos (estabilizantes, preservantes, edulcorantes, colorantes, etc.) que se utilizan en la fabricación de los mismos.

Al hablar de colorantes el principal problema se centra en los llamados colorantes sintéticos, lacas o artificiales, los cuales han sido objeto de extensos estudios con el pasar del tiempo, en donde se ha evidenciado una mayor preocupación por parte de los consumidores los cuales ya ven necesario mantenerse informados sobre que contienen los alimentos que consumen, esto debido a problemas en la salud a causa del consumo de alimentos los cuales contienen aditivos alimentarios.

Así pues en lo que a los colorantes sintéticos se refiere tienen algunas ventajas por ejemplo el brindar al producto una mejor presentación y una mejor conservación del color, pero en algunos casos no se toma en cuenta el aspecto de la seguridad alimentaria ya que estos colorantes tienen efectos cancerígenos, alérgicos, hiperactividad y déficit de atención en los niños los cuales son los principales consumidores de alimentos que contienen estos aditivos como postres, caramelos, bebidas, etc.

En lo que al aguacate respecta, esta es una fruta comestible con semilla muy voluminosa de la cual se extrae un colorante, una antocianina, que puede ser utilizada para teñir tejidos naturales y alimentos (Devia & Saldarriaga, 2005). Por lo que se puede afirmar que el potencial industrial que tiene este fruto es muy amplio. Lamentablemente debido a la falta de conocimiento e innovación de las industrias que se dedican a la explotación del aguacate, este fruto no es aprovechado en su totalidad, siendo desperdiciadas semilla y cáscara, pese a sus cualidades nutricionales y bromatológicas.

## **1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

¿El pigmento natural obtenido de la semilla de aguacate de las variedades (*Persea americana* var. *Hass* y *Persea americana* var. *Fuerte*) es viable para el uso como aditivo en la industria alimentaria?

## **1.3. DELIMITACIÓN**

**Línea de Investigación:** Transformación de materias primas

**Área:** Investigación Aplicada

**Sub-área:** Tecnología Alimentaria

**Sector:** Agroindustria

**Sub-sector:** Extracción de colorantes

**Situación geográfica:** Provincia del Carchi. Cantón Tulcán.

Edificio de laboratorios de la Universidad Politécnica Estatal del Carchi. Laboratorio de Control de Calidad.

## 1.4. JUSTIFICACIÓN

La presente investigación se justifica en el hecho de que actualmente se observa una creciente preocupación en la alimentación de las personas sean estos niños, jóvenes o ancianos por parte de entidades del estado ecuatoriano lo que ha ocasionado que se el sector industrial busque nuevas alternativas en cuanto a aditivos y puntualmente en cuanto a los colorantes empleados en la elaboración de muchos de los alimentos.

Mira es un cantón de la provincia del Carchi en donde el aguacate tiene una amplia presencia y ha comenzado a ser industrializado para la elaboración de crema, aceite, velas y jabones. Sin embargo los residuos originados por esta actividad son simplemente descartados sin un tratamiento previo y menos aún se les brinda un valor agregado como posibles insumos en la industria alimenticia.

Al brindar una alternativa de transformación de la semilla de aguacate e investigar específicamente el potencial de las variedad Hass y Fuerte, que son las variedades típicas de esta región, no solo se buscará obtener un aditivo nutritivo y eficiente, sino que se brindaría otra opción económica para un sector que históricamente ha sido excluido y abandonado. Además el impacto ambiental que este proyecto generaría sería beneficioso ya que limitaría la generación de desperdicios propios de esta actividad.

## 1.5. OBJETIVOS.

### 1.5.1. Objetivo General.

Evaluar el pigmento natural obtenido de la semilla de dos variedades de aguacate (*Persea americana* var. *Hass* y *Persea americana* var. *Fuerte*) para su utilización en la industria de alimentos.

### 1.5.2. Objetivos Específicos.

- Extraer el pigmento presente en las dos variedades de semilla de aguacate.
- Analizar la estabilidad del pigmento obtenido de las dos variedades de semilla de aguacate.
- Realizar un análisis físico-químico (pH, acidez y sólidos solubles) del yogurt natural coloreado con el pigmento extraído.
- Determinar la dosis óptima para la utilización del colorante extraído en yogurt.
- Establecer el rendimiento y costos de producción del pigmento obtenido a partir de las dos semillas de aguacate.

## 2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.

### 2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.

En la universidad de Guanajuato, 2007, Maria E. Pahua Ramos, Alicia Ortiz Moreno, German Chamorro C. y Leticia Garduño S. en su publicación, “Estudio de las propiedades de la semilla de aguacate (*Persea americana*) variedad Hass, para el aprovechamiento integral del fruto” se estipula que en México el aguacate es un fruto de gran importancia económica, ya que ocupa el primer lugar a nivel mundial en producción con más de 987323 toneladas anuales, tiene amplias oportunidades en los mercados internacionales, tanto en fresco como procesado en guacamole, puré, aceite, cosméticos. Cabe señalar que en la industrialización de estos productos se ocupa la parte comestible del aguacate, desechándose la cascara y la semilla. La semilla representa de un 15 a 16 % del total del fruto, en consecuencia de desperdicia aproximadamente 148000 toneladas anualmente. Sin embargo para que estos productos puedan ser consumidos por el ser humano deben estudiarse los factores de riesgo, así como una posible actividad farmacológica. El análisis fotoquímico de la semilla de aguacate mostro presencia de taninos y azúcares reductores. La dosis letal media (DL<sub>50</sub>) tuvo un valor mayor a 2000 mg/kg, lo que corresponde a un producto ligeramente toxico. También se realizó un estudio en ratones en el cual se demuestra que hay una disminución del 55 % de movilidad espermática, por lo que se podría utilizar la semilla de aguacate como un anticonceptivo natural para varones a corto plazo.

En la Universidad Técnica de Ambato, 2011, Diana Paulina Guerrero Escobar en su tesis “extracción y evaluación de un colorante natural a partir de la pepa de aguacate para el teñido de las fibras de algodón y poliéster” se llevó a cabo un proceso el cual constaba de algunas partes como: extracción, análisis, evaluación y la aplicación del colorante en las fibras textiles. Para el proceso se utilizó hidróxido de sodio y etanol como solventes y se probó con el estado de la semilla es decir semilla seca y fresca en donde los resultados fueron que el mejor tratamiento era hidróxido de sodio R = 40% aunque no se encontró diferencia significativa en cuanto al estado

de la semilla pero en lo que a concentración de colorante respecta el mejor tratamiento sigue siendo con hidróxido de sodio y en el estado de semilla el mejor tratamiento es utilizando semilla seca y por último se realizó una comparación usando un colorante normal versus el colorante natural dando buenos resultados ya que el colorante natural de la semilla de aguacate se adhirió muy bien a la fibra. En lo que al rendimiento respecta, tomando en cuenta a una relación peso final de la semilla y peso inicial, se obtuvo mejor rendimiento con hidróxido de sodio en 40% a diferencia del etanol que fue de 24%.

En Bogotá – Colombia, Gloria Astrid Garzón, PhD., en el año 2009, en su publicación “las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión”, estipula que en la actualidad existe una gran demanda de colorantes naturales alternativos a los colorantes sintéticos debido a que los colorantes sintéticos pueden llegar a ser tóxicos y nocivos para la salud de los consumidores así pues se establece que las antocianinas son pigmentos vegetales que pueden llegar a ser un potencial competidor de los colorantes sintéticos, de ahí la importancia de su estudio en cuanto a las propiedades químicas y bioactivas de las antocianinas. Las antocianinas abarcan la gama de colores que van del rojo hasta el azul y el interés en estos pigmentos radica en la posibilidad que estos tienen de tener efectos terapéuticos y beneficiosos como disminuir enfermedades coronarias, efectos anticancerígenos, antitumorales, antiinflamatorios y antidiabéticos. Sin embargo establece que todavía queda mucho que aprender como su estabilidad, la actividad biológica, dosis lo que hace que estos pigmentos sean efectos de investigación continua.

## **2.2. FUNDAMENTACIÓN LEGAL.**

El presente proyecto de investigación se basa en la vigente Constitución de la República del Ecuador (2008), en el Capítulo Tercero, Soberanía Alimentaria Art.281, menciona, “La Soberanía Alimentaria Constituye un objetivo estratégico y una obligación del estado, para garantizar que las personas, comunidades, pueblos y nacionalidades alcancen la autosuficiencia de alimentos sanos y culturalmente apropiados de forma permanente”.

Para ello será responsabilidad de estado “Impulsar la producción, transformación agroalimentaria y pesquera de la pequeñas y medianas Unidades de producción, comunitarias, de economía social y solidaria”.

En el inciso 8, habla de “Asegurar el desarrollo de la investigación científica y de la innovación tecnológica apropiadas para garantizar la Soberanía Alimentaria”

En el plan nacional del buen vivir en el punto 8.4.2. La diversificación de la producción agroalimentaria: soberana, sana, eficiente.

La producción primaria o rural deberá considerar tres principales mercados, en el siguiente orden: el consumo interno que permita garantizar la soberanía alimentaria; la producción para la industria nacional con miras a encadenamientos productivos, generación de empleo y valor agregado a la producción; y la exportación, considerando la inserción inteligente y soberana en el mundo mediante la ubicación de mercados alternativos de productos y destinos. La distribución actual de la producción primaria en el país es muy heterogénea; ciertas áreas se dedican casi exclusivamente a productos agrícolas de exportación, mientras otras a la producción de alimentos para el consumo interno. En general hay una producción deficiente para el desarrollo industrial o manufacturero. Si bien existen algunos productos que presentan excedentes nacionales, como es el caso de la leche y el arroz en ciertos momentos del año (SENPLADES, 2009).

Diversificar la producción es un eje importante para establecer los ámbitos de sustento al desarrollo rural, en particular para asegurar las cadenas cortas y el

retorno de los flujos de riqueza a los espacios rurales. Además, esto diversifica las fuentes de ingresos, haciendo la economía local menos dependiente de flujos de mercados locales, nacionales e internacionales. La misma diversificación introduce otros conceptos de eficiencia que van más allá de la producción agrícola misma, incorporando todo el ciclo de los productos hasta el consumo, porque reduce costos e impactos de transacciones y de transporte. Finalmente, contribuye a un desarrollo sustentable, porque un espacio de producción diversificada desde el punto de vista biológico, en contraste con grandes extensiones de monocultivos, ocupa menos fertilizantes o pesticidas, y puede fácilmente controlar sus cultivos en base a prácticas agroecológicas (SENPLADES, 2009).

Adicionalmente, desde los territorios rurales se generan las condiciones de base para la soberanía alimentaria. La misma que se sustenta en el reconocimiento del derecho a la alimentación sana, nutritiva y culturalmente apropiada, para lo cual es necesario incidir tanto en las condiciones de producción, distribución y consumo de alimentos. El reconocimiento de la función social y ambiental de la propiedad, el incentivo a la agroecología y la diversificación productiva, deben complementarse con la identificación y planificación de los requerimientos de abastecimiento nacional de alimentos, en consulta con productores y consumidores; así como el impulso a políticas fiscales, tributarias, arancelarias, que protejan el sector agroalimentario nacional, para evitar la dependencia en la provisión de alimentos. Los retos fundamentales en cuestión de soberanía alimentaria que se presentan están en la aplicación al derecho a la alimentación; en la implementación de reformas redistributivas; en la regulación a la agroindustria; y en la necesidad de definir un nuevo modelo de desarrollo para el sector agropecuario (SENPLADES, 2009).

## 2.3. FUNDAMENTACIÓN FILOSÓFICA.

**Aspecto Social:** Con el pasar de los años el uso de colorantes sintéticos ha venido ocasionando problemas a la salud de los consumidores por lo que se ha ido relegando el consumo de algunos alimentos que pueden ocasionar daños debido a los aditivos que estos contienen, es así que se espera obtener un colorante natural que ayude a sustituir algunos colorantes sintéticos además de brindar algún beneficio a la salud debido a propiedades que las antocianinas aportan.

**Aspecto Económico:** Actualmente en las empresas que se dedican a la industrialización del aguacate se tiene desperdicios y uno de esos es la semilla, con esta investigación se podría brindar una alternativa para dar valor agregado a este subproducto y así las industrias podrían gozar de una nueva fuente de ingresos económicos.

**Aspecto Ambiental:** El dar un valor agregado a un subproducto como es la semilla, que normalmente es tratada como desecho, podrá disminuir el impacto ambiental que se genera en la industrialización del aguacate.

## 2.4. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICA.

### 2.4.1. El Aguacate

#### 2.4.1.1. Origen y distribución

El aguacate, es el fruto de un árbol originario de México y Centroamérica. Partiendo de pruebas arqueológicas encontradas en Tehuacán en el Estado de Puebla, con una antigüedad aproximada de 10,000 años, se ha determinado concretamente que el árbol de aguacate se originó en México, Centro América hasta Colombia, Venezuela, Ecuador y Perú. El nombre aguacate, con el que se le conoce en muchos países de habla hispana, proviene del término “ahuacatl”, vocablo de origen náhuatl, que significa testículo en lengua Maya. El cultivo fue expandiéndose hacia Centro y Sur América y muy posteriormente a la colonización, llegó a otros lugares fuera del continente americano. Los españoles lo llevaron a Europa en el siglo XVI,

junto con otros alimentos nuevos descubiertos en las primeras expediciones a América, como son la papa, el maíz, algunas frutas tropicales y el chocolate. Hoy en día es una de las frutas tropicales más populares en el mundo entero por su alto valor nutritivo, sabor agradable, versatilidad y fácil preparación (Bartoli, 2008).

#### 2.4.1.2. Clasificación y descripción botánica

En cuanto a las características botánicas, el aguacate se clasifica de la siguiente forma:

**Tabla 1:** Clasificación botánica de *Persea americana*

Clase	Dicotiledoneae
Sub clase	Dialipétala
Orden	Ranales
Familia	Lauraceae
Género	Persea
Especie	Americana

**Fuente:** (Bartoli, 2008)

**Elaborado por:** Revelo, M. 2015

#### 2.4.1.3. Importancia nutricional

El aguacate posee importantes propiedades alimenticias y medicinales por su alto contenido de aceite (12 – 30 %) y proteínas (1.5 - 2.5 %), además de su contenido de hidratos de carbono, vitaminas y minerales. Esas características le confieren grandes posibilidades en el aumento del consumo en la dieta humana. Actualmente se está desarrollando su industrialización en la producción de alimentos, extracción de aceites y productos farmacológicos (Bartoli, 2008).

Según Rodríguez Suppo (1982) citado por (Bartoli, 2008), una muestra de 100 g de pulpa de aguacate contiene: 15.6 g de grasa, 1.6 g de proteína, 4.8 g de hidratos de carbono, 24 mg de calcio, 47 mg de fósforo, 0.53 mg de hierro, 0.09 mg de tiamina, 0.14 mg de riboflavina, 1.19 mg de niacina, 14 mg de ácido ascórbico y 152 calorías. Por lo que el consumo de aguacate, ayuda a reducir los niveles de colesterol.

**Tabla 2:** Análisis del contenido de 100 g de pulpa de aguacate

Elemento	Cantidad (mg)	Elemento	Cantidad (g)
Calcio	24	Fibra	0.4
Hierro	0.5	Carbohidratos	5.9
Zinc	0.42	Proteínas	1.8
Magnesio	45	Grasa Total	18.4
Sodio	4.0	Potasio	604 mg

**Fuente:** (Bartoli, 2008)

**Elaborado por:** Revelo, M. 2015

**Tabla 3:** Contenido de vitaminas y ácidos grasos

Vitaminas	Contenido	Ácidos grasos	Contenido
A	85.00 ug	Saturados	3.0 g
D	10.00 ug	Monoinsaturados	8.9 g
E	1.53 mg	Poliinsaturados	2.0 g
K	8.00 ug		
B1	17 mg		
B2	0.10 mg		
B6	0.25 mg		
C	15.00 mg		
Niacina	1.8 mg		
Ácido pantoténico	0.87 mg		
Retinol	17 mg		
Ácido fólico	32.00 ug		

**Fuente:** (Bartoli, 2008)

**Elaborado por:** Revelo, M. 2015

#### 2.4.1.4. Categorías de aguacate

Generalmente, se identifican tres categorías de aguacate: mexicana, guatemalteca y antillana. Así pues se establece que la categoría Mexicana tiene como principal característica ser muy resistente al frío, así como también su alto contenido de aceite. El tamaño del fruto es variable, con tendencia a pequeño, la categoría Guatemalteca posee un fruto de tamaño pequeño y forma redonda, cuya característica principal es su cáscara gruesa y la categoría Antillana se adapta a clima tropical y es más tolerante a la salinidad, también tiene un lapso de flor a fruto bastante corto y el tamaño de su fruto es mayor que las otras categorías (SAGARPA, 2011).

#### 2.4.1.5. Características

El árbol muestra un crecimiento inicial de lento a moderadamente agresivo, esto depende de la radiación solar. Posee una copa achaparrada, muy productiva en los tercios inferior y medio. Las hojas son lanceoladas y largas. El fruto es oval o periforme, con un peso entre 150 a 300 gramos, la cáscara es gruesa, resistente al transporte y se remueve con facilidad, su color varía de verde a morado oscuro cuando madura. La pulpa tiene excelente sabor, no posee fibra y contiene del 18 a 22% de aceite. Para el uso de las variedades Hass y Fuerte se recomiendan las zonas altas, en las cuales se pueden plantar combinados por pertenecer a grupos florales distintos (Hass: A y Fuerte: B) para que actúen como polinizadores mutuamente. Además, cuentan con la ventaja de tener producción escalonada; la variedad Fuerte con maduración de sus frutos entre agosto a octubre y la variedad Hass entre octubre a febrero, lo cual permite una mejor planificación y distribución de la cosecha (Bartoli, 2008).

#### 2.4.1.6. El cultivo de aguacate

##### Plantación

Puede ser plantado por 2 métodos; el primero es plantar directamente la semilla al terreno; el segundo es por medio del injerto que se realiza en viveros. La planta injertada proporciona un mejor ciclo de vida al árbol, además auspicia que los rendimientos en la producción sean mayores y sea menos inmune a las enfermedades, además, en variedades como el aguacate Hass puede llegar a producir de 1,000 a 1,500 frutos al año, aproximadamente, a los 10 años de vida del árbol. La recolección de los frutos se realiza unos días antes que maduren (SAGARPA, 2011)

##### Fertilización

La aplicación de fertilizantes debe basarse en los análisis de suelo y foliar; siempre buscando obtener los mayores beneficios agronómicos y económicos posibles sin dañar el medio ambiente. En el caso del aguacate, son de vital importancia la aplicación de los macro nutrientes nitrógeno (N) y potasio (K) y los secundarios calcio (Ca) y magnesio (Mg). En suelos con contenido medio a alto de fósforo (P) sin problemas de pH u otros factores que pueden disminuir la disponibilidad de fósforo para la planta, solo se recomienda la aplicación de dosis de fósforo (P) de mantenimiento (aplicar solo la cantidad de fósforo que se está sacando de la parcela) cada dos o tres años, una buena fertilización debe iniciarse en el vivero. El iniciar una plantación con plantas de vivero bien nutridas ayudará a evitar muchos problemas de manejo y producción. La primera fertilización en el campo debe realizarse de 30 a 40 días después del trasplante (Bartoli, 2008).

##### Riego

El riego es parte fundamental para una explotación comercial de aguacate, para esto el productor debe de contar con la cantidad de agua suficiente para satisfacer las necesidades de la plantación. Su productividad, mediante el suministro de riego, es definitivamente superior a la obtenida sin irrigación, tanto en producción de fruta

como en vigor y aspecto del árbol; sin embargo, un mal manejo del riego perjudica al cultivo, al suelo y disminuye el beneficio económico del productor. De acuerdo al tamaño, densidad del follaje y condiciones del ambiente, los árboles absorben diferentes cantidades de agua. Un mismo árbol necesita más agua en los periodos secos y calurosos que en los húmedos y frescos, por lo que se debe regar de acuerdo con las necesidades del árbol (Bartoli, 2008).

### Control de malezas

Las malezas son un problema para las plantaciones, compiten por nutrientes, agua, espacio y luz, aumentan los costos, reducen los rendimientos y la calidad de la cosecha; aunque proporcionan una cobertura benéfica y protectora del suelo, por ello deben manejarse con regularidad y prudencia (Bartoli, 2008).

En plantaciones jóvenes compiten por luz y nutrientes, en plantaciones desarrolladas crean microclimas desfavorables bajo los árboles, sirven de hospederos alternos para plagas y enfermedades. Las malezas son responsables de reducciones en el rendimiento del orden del 5 al 15 %, además, en condiciones de altas precipitaciones y pendientes de moderadas a escarpadas, se recomienda mantener las malezas de las calles bajas, no eliminarlas por completo porque protegen el suelo de la erosión. Se deben eliminar las malezas en el área de goteo del árbol con un 30% adicional (Samson, 1,993 y Godínez et al., 2,000) citado por (Bartoli, 2008).

### Plagas

El cultivo del aguacate es atacado por ciertos ácaros e insectos causando daños que se manifiestan principalmente en pérdidas a la producción y baja calidad de los frutos así pues enseguida se mencionan las plagas de mayor importancia económica (Bartoli, 2008).

- Trips (*Frankliniella* spp.)
- Araña roja (*Oligonychus punicae*) (*Oligonychus perseae*)
- Araña blanca cristalina o telarañera (*Oligonychus homonychus perseae*)

- Barrenador de las ramas (*Copturus aguacate*)
- Perforador del fruto (*Stenoma catenifer*)
- Taladrador del tronco (*Copturomimus perseae* Gunthe)
- Minador de la hoja (*Gracillaria perseae*)
- Barrenador pequeño del hueso del aguacate (*Conotrachelus perseae*)
- Mosca blanca (*Tetraleurodes spp.*)
- Taladrador de la semilla (*Heilipus luari* Boh)
- Periquito (*Metcalfiella monograma*)
- Chinche de encaje (*Asista perseae*)
- Mosca verde (*Aethalion quadratum*)
- Agalla (*Trioza anceps*)
- Gusano confeti (*Phyrrropyge chalybea*)
- Gusano arrollador de la hoja (*Platynota spp.*)
- Gusano telarañero (*Gracilaria perseae*)
- Ácaros-arañuela roja (*Tetranychus telarius*)
- Cochinillas
- Cochinilla semiesférica
- Arañitas rojas (*Oligonychus sp; tetranychus urticae*)
- Cochinilla periforme (*Protopulvinaria pyriformis*)
- Trips del aguacate (*Heliothrips haemorrhoidalis*)
- Pulgones (*Aphis gossypi*)

## Enfermedades

El fruticultor debe manejar estrategias de combate que permitan mantener las enfermedades existentes en niveles que no produzcan daño económico y evitar la llegada de otras nuevas. Para esto es necesario conocer las diversas enfermedades, su biología y combate (Bartoli, 2008), entre las enfermedades de mayor importancia se encuentran:

- Pudrición de la raíz (*Phytophthora cinnamomi*)
- Cancro por *Phytophthora*
- Pudrición de la raíz por Rosellinia (*Rosellinia necatrix*), (*Rosellinia bunodes*), (*Rosellinia pepo*)
- Cancro del tallo por Dothiorella (*Dothiorella dothidea*)
- Marchitamiento por Verticillium (*Verticillium dahliae*)
- Antracnosis (*Glomerella cingulata*) (*Colletotrichum gloeosporioides*)
- Sarna o Roña (*Sphaceloma perseae*)
- Cercosporiosis (*Cercospora purpurea*) o (*Cercospora perseae*)

- Oídio o mildéu polvoso (*Oidium perseae*)
- Fumagina causada por hongos del genero *Capnodium*
- Mancha foliar (*C. Virescens*)
- Pudrición del corazón, en el tronco y raíces mayores (*Poria lactomarginata*)
- Pudrición del tronco y raíces (*Fomes geotropus*), (*Poliporus hirsutus*) (*P. sulphureus*), (*Clitocybe tabescens*) y (*Armillariella mellea*)
- Muerte de plántulas (*Rhizoctonia solani*) y (*Corticium rolfsii*)
- Fusariosis

## Cosecha

Normalmente, la primera cosecha comercial ocurre a los cinco años en árboles injertados y la cantidad de frutos producidos depende de la variedad y la atención que haya recibido la planta en su desarrollo. A los cinco años, generalmente se cosechan cincuenta frutos; a los seis años, ciento cincuenta frutos; a los siete años, trescientos frutos y ochocientos a los ocho años. Algunas variedades como el aguacate Hass, Fuerte y otras de fruto pequeño, pueden producir entre 1.000 y 1.500 frutos a los diez años. El porcentaje de materia seca tiene un alto grado de correlación con el contenido de aceite y se usa como índice de madurez en la mayoría de las áreas productoras de aguacate, el mínimo requerido de materia seca varía de 19 a 25%, dependiendo de la variedad (19% para Fuerte, 20.8% para Hass y 24.2% para Gwen) (Bartoli, 2008).

La recolección se hace a mano utilizando una escalera, se corta el pedúnculo por encima de la inserción con el fruto. Dado que el fruto del aguacate tiene una actividad respiratoria muy intensa después de recolectado, su almacenamiento por periodos largos se hace difícil ya que esta característica conlleva una intensa actividad microbiana y una fuerte disminución del contenido de agua en el fruto. La magnitud de la respiración del fruto depende de las variedades, grado de madurez, condiciones ambientales de la zona y del almacenamiento. Al cosechar, se debe evitar la exposición de la fruta al sol ya que al elevar la temperatura interna se disparan procesos fisiológicos y químicos que aceleran la maduración y degradación del fruto. La fruta no debe sufrir golpes o compresión ya que se afecta la firmeza de la pulpa, la cual al ablandar el fruto maduro, se torna manchada y sin

consistencia (aguada), y por tanto, no comestible. El rozamiento de frutos y otros daños o heridas en la piel del fruto aceleran la pérdida de agua, la respiración y la liberación de etileno, por lo tanto acelerando la maduración y posterior degradación del fruto, además que constituyen vías de entrada al ataque de patógenos. Por lo anterior, debe darse un trato muy cuidadoso al manejar la fruta desde que se desprende del árbol hasta que se empaca. Se deben cosechar frutos que han alcanzado su madurez fisiológica, y están en un estado conocido regionalmente como "sazón", "tres cuartos", etc. (Bartoli, 2008).

#### Contenido de aceite

El aguacate se caracteriza en general por su elevado contenido de grasas y/o aceites, siendo los cultivares de la raza Mexicana; los de mayor contenido (entre 10% y 15%). En los cultivares de la raza Guatemalteca varían de 10% a 13% correspondiendo a los cultivares de la raza Antillana los más bajos porcentajes (entre 4% y 7%). Este porcentaje está referido al peso del fruto excluyendo la piel cáscara y la semilla. En la medida que el fruto alcanza su madurez fisiológica el contenido de aceite es mayor. Proporción de azúcar/ácido. El contenido de azúcar en el fruto, disminuye en la medida que alcanza su madurez (Bartoli, 2008).

#### Empacado

Inicia con el proceso de pre-enfriamiento del fruto, esto significa que después de la cosecha, se deja en pallets por 24 horas, para disminuir la temperatura del producto. Después, se lava el fruto con agua y una solución fungicida, seguido por el secado del fruto y una ligera cepillada, con lo que adquiere una apariencia brillante, posteriormente, se empacan en cajas de 4 o 6 kg dependiendo al país destino, estas cajas se estiban sobre bases de madera o fibra de vidrio, conocidas como pallets, que soportan 1200 kg y se estiban de 200 a 255 cajas (SAGARPA, 2011).

## Almacenamiento

Dado que todos los productos comestibles tienen una actividad respiratoria muy alta, es necesario mantenerlos con atmósfera controlada para que puedan conservar su calidad y su estado (SAGARPA, 2011).

## Temperatura

Esta fruta se debe mantener a una temperatura de 7 °C. En estas condiciones, la vida del producto en el almacén puede ser hasta de 2 semanas (SAGARPA, 2011).

### 2.4.1.7. Industrialización del Aguacate

Los productos industrializados tienen una larga vida útil y pueden almacenarse por un tiempo prolongado, sin necesidad de mayores cuidados, como el producto en fresco. La industrialización del aguacate tiene dos principales subproductos: el aceite de aguacate y el guacamole (SAGARPA, 2011).

## Aceite de aguacate

El aguacate, dependiendo de la variedad alcanza en la pulpa niveles de hasta 25% de aceite, con valores promedios de 15-19%, lo que permite lograr rendimientos de alrededor de 10% de la fruta fresca, la composición del aceite crudo de aguacate contiene alrededor de un 80 - 85% de ácidos grasos insaturados así como un importante nivel de materia insaponificable. Debido a su alto contenido de ácidos grasos monoinsaturados, se ha comparado en la calidad nutricional con el aceite de oliva. Se conoce que ayuda a reducir las lipoproteínas de baja densidad (colesterol malo), también ayuda a reducir el contenido de triglicéridos en la sangre y por lo tanto disminuye el riesgo de desarrollar arterosclerosis (SAGARPA, 2011).

El aceite de aguacate se utiliza de muy distintas formas:

En la industria cosmética, se utiliza como rehidratante para la piel seca y combatir las arrugas, mejorar el cutis entre otros usos. El aceite en la industria alimentaria se oferta al consumidor como un aceite tipo gourmet, además, gracias a su contenido

de vitamina A, D y E, se incorporan en fórmulas cosméticas y para productos de belleza. El aceite tiene uso farmacéutico como transportador de diferentes activos omega 3, 6 y 9. El aceite extra virgen de aguacate es más saludable que el de oliva y es el único aceite que tiene los tres omegas (SAGARPA, 2011).

#### Pulpa y Guacamole

El método de conservación que mejores resultados ofrece es mediante la congelación de la pulpa, a partir de la cual se pueden obtener base para productos como salsas o condimentos para alimentos como papas y galletas saladas. Las pulpas almacenadas a temperatura de -18 °C conservan durante más tiempo sus características iniciales, sin embargo su calidad comienza a decrecer después de tres meses en almacenamiento, otro de los inconvenientes es la significativa pérdida de textura que ocurre después de la descongelación debido a la destrucción celular. El producto con mayor aceptación de la pulpa de aguacate es el guacamole, el cual consiste en una salsa de aguacate, la cual puede ser totalmente molida o contener pequeños trozos de aguacate. La formulación del guacamole se basa en la pulpa procesada con el mejor tratamiento que incluía la adición de antioxidantes y conservantes, adicionándose las especias en diferentes proporciones, así se concluye que el guacamole tiene amplia aceptación alrededor del mundo, en la cocina mexicana se usa como salsa para todo tipo de alimentos, mientras en cocinas internacionales, se sirve como aderezo para platos principales, es el caso de los EE.UU. donde se come con totopos o se usa como salsa para guisos de carne, ampliamente difundida por la comida Tex-Mex (SAGARPA, 2011).

#### Semilla de Aguacate

A la semilla de aguacate se le han atribuido varias propiedades cosmetológicas y farmacéuticas;

Entre las propiedades farmacológicas se puede establecer que, debido a la presencia de ácidos grasos, compuestos polifenólicos y esteroides, ha sido usada desde épocas precolombinas contra padecimientos tales como dolores musculares,

parásitos y micosis, y en lo que tiene que ver a las propiedades cosmetológicas se puede decir que, la semilla tostada y pulverizada se emplea en el tratamiento de la caída de cabello y para el tratamiento de la caspa (Pahua, Ortiz, Chamorro, & Garduño, 2007).

**Tabla 4:** Análisis proximal de la semilla de aguacate variedad Hass

Determinación	Resultados experimentales (g/100g)	Resultados bibliográficos (g/100G)
Humedad	47.5	47.8
Cenizas	1.2	0.9
Proteína	2.6	1.7
Fibra Cruda	3.5	3.5
Extracto Etéreo	2.4	2.8

**Fuente:** (Pahua, Ortiz, Chamorro, & Garduño, 2007)

**Elaborado por:** Revelo, M. 2015

**Tabla 5:** Análisis fotoquímico de la semilla de aguacate variedad Hass

Muestra		Extracto etéreo de semilla de aguacate	Extracto etanólico de semilla de aguacate	Extracto acuoso tradicional de semilla de aguacate
Alcaloides		Negativo	Negativo	Negativo
Taninos		Positivo Azul	Positivo Azul	Negativo
Azúcares reductores	Fehling	Positivo Naranja	Positivo Naranja	Positivo Naranja
	Benedict	Positivo Naranja	Positivo Naranja	Positivo Naranja
Flavonoides	NaOH	Negativo	Positivo	Positivo
	HCl	Negativo	Negativo	Negativo
Quinonas	NaOH	Negativo	Negativo	Negativo
	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Negativo	Negativo	Negativo
Saponinas		Negativo	Negativo	Negativo
Serquiterpenlactonas		Negativo	Negativo	Negativo

**Fuente:** (Pahua, Ortiz, Chamorro, & Garduño, 2007)

**Elaborado por:** Revelo, M. 2015

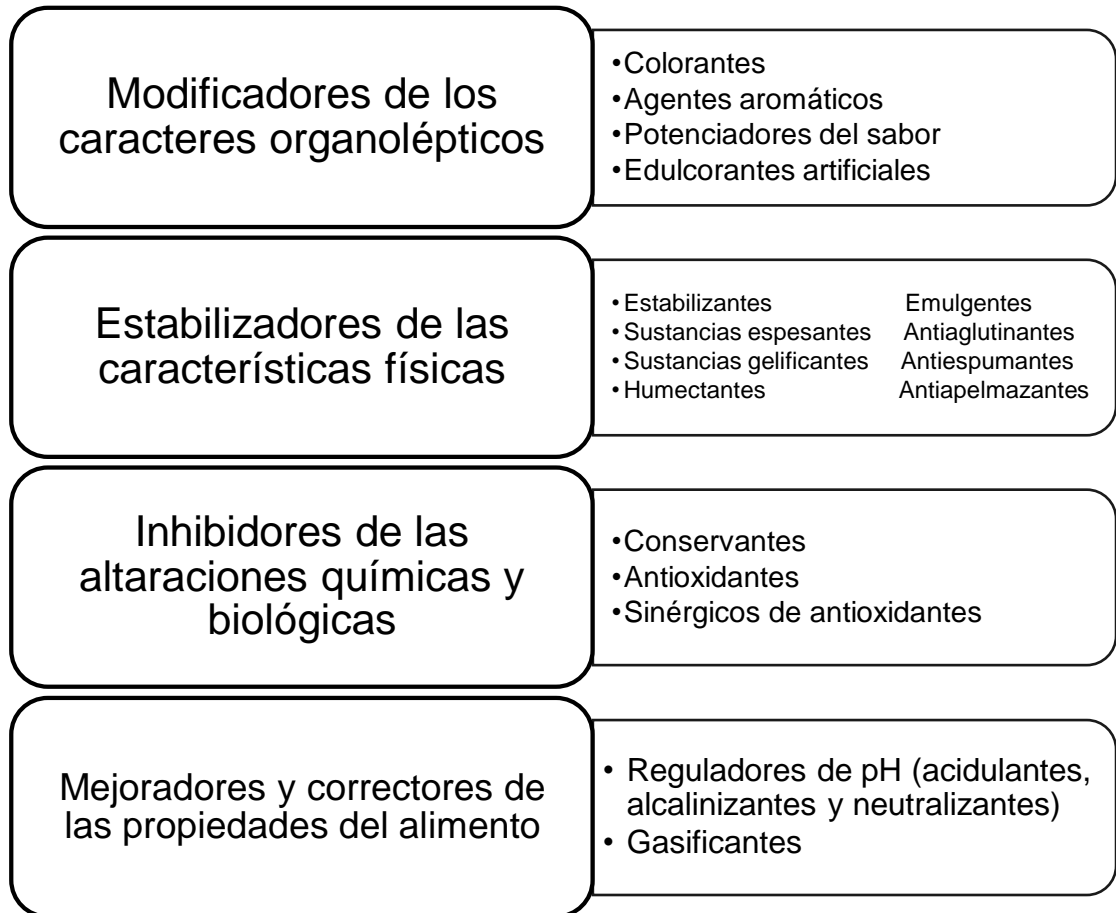
## 2.4.2. Aditivos Alimentarios

Aunque la opinión pública considera a los aditivos como uno de los mayores peligros asociados a los alimentos, hay que precisar que, en términos de gravedad, incidencia y periodo de incubación deben ser clasificados en la categoría de los menos peligrosos. La preocupación actual por los aditivos alimentarios está en muchos casos asociada con la idea de que los alimentos “naturales” son los buenos y que los artificiales (alimentos procesados que contienen aditivos) los malos. Se consideran aditivos a aquellas sustancias añadidas intencionadamente a los alimentos para mejorar sus propiedades físicas, sabor, conservación, etc., pero no a aquellas añadidas con el objetivo de aumentar su valor nutritivo. En aquellos casos en los que la sustancia añadida es eliminada, o la cantidad de ella que queda en el alimento no tiene función alguna, no se considera un aditivo sino un agente auxiliar de fabricación (García, 2002).

### 2.4.2.1. Clasificación de los aditivos

En relación a la clasificación de los aditivos, el criterio que prevalece generalmente tiene que ver con las categorías funcionales, es decir, considerando el objetivo tecnológico perseguido en su utilización (García, 2002). Los aditivos alimentarios se clasifican según su acción específica en distintos grupos como los siguientes:

**Figura 1:** Clasificación de los aditivos alimentarios



**Fuente:** (García, 2002)

**Elaborado por:** Revelo, M. 2015

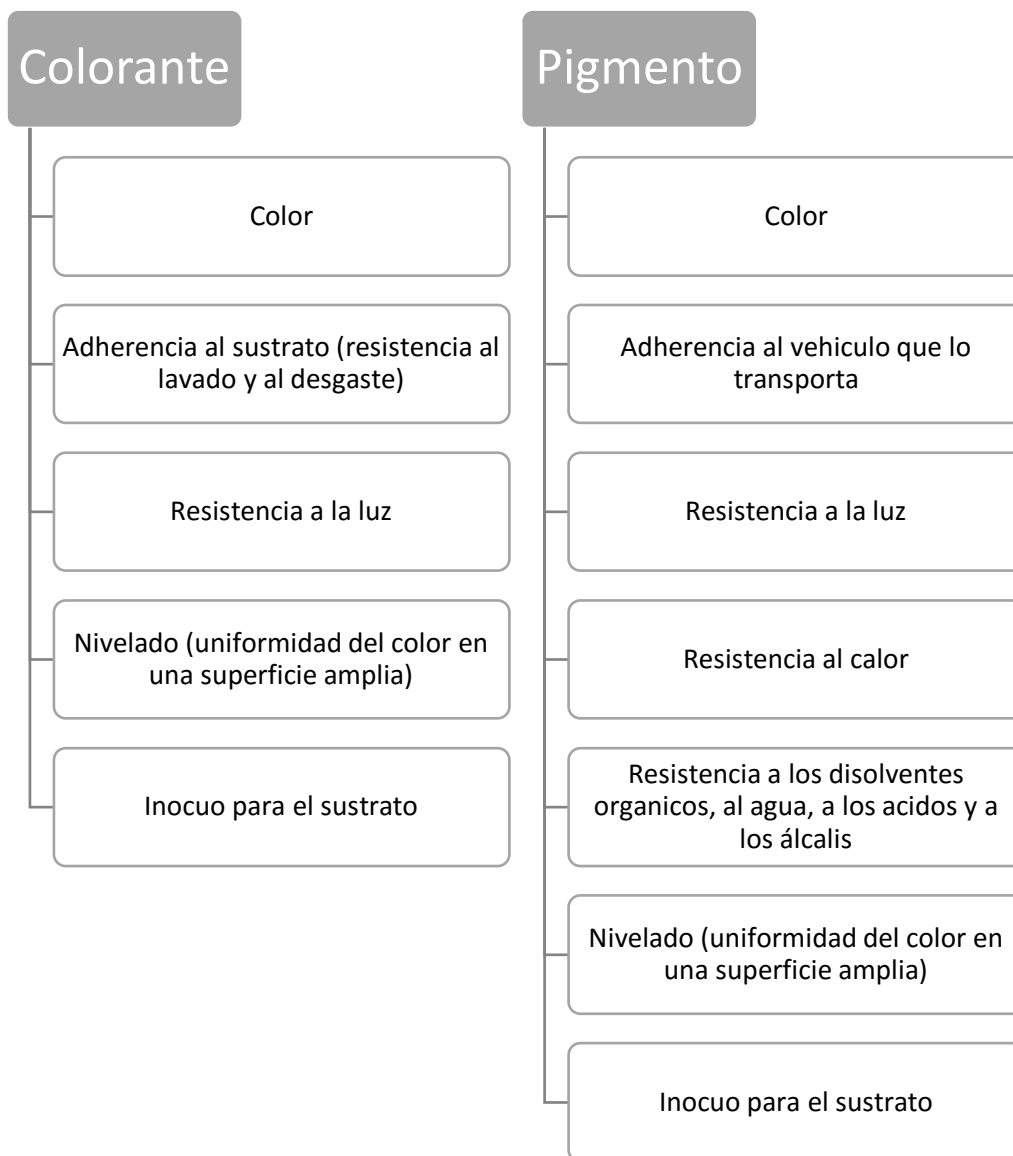
### 2.4.3. Colorantes

Se añaden para reforzar o variar el color de los productos alimenticios, ya que el color resulta decisivo a la hora de elegir un alimento por parte de los consumidores (Fundación vasca para la seguridad agroalimentaria, 2011), además Badui (1993) citado por (Cano, 2011) afirma que la homogeneidad del color de los productos durante el tiempo de vida útil es fundamental. El público desea encontrar siempre el alimento con los mismos colores; de otro modo, se descontrola y desconfía. Por esta razón, existen en el mercado diversos agentes químicos que sirven para colorear; básicamente hay de dos tipos: los naturales y los sintéticos. Entre los

primeros destacan carotenoides, betalaína, clorofila y ácido carmínico, así como el caramelo; todos éstos provienen de fuentes naturales. Por otra parte, los sintéticos se obtienen mediante un proceso químico industrial y existe una gran cantidad de ellos; sin embargo, sólo algunos están aprobados para su uso, aunque se permitan o limiten en otros países. Esta situación es muy común con estos colorantes, ya que las legislaciones europeas, de Estados Unidos y de Japón, por mencionar sólo algunas, no siempre están de acuerdo en relación con la toxicidad o inocuidad de cada uno de estos colorantes.

Los alimentos naturales tienen su propio color, por lo que en principio parecería como ideal su mantenimiento a lo largo del proceso de transformación. Sin embargo, los consumidores prefieren en determinados alimentos un color constante, que no varíe entre los diferentes lotes de fabricación de un producto. La variabilidad natural de las materias primas hace que este color normalizado solo pueda obtenerse modificándolo de forma artificial, además, muchas sustancias colorantes naturales de los alimentos son muy sensibles a los tratamientos utilizados en el procesado (calor, acidez, luz, conservantes, etc.), destruyéndose, por lo que deben substituirse por otras más estables. Otros alimentos, como los caramelos, o como los productos de alta tecnología aparecidos recientemente en el mercado como imitaciones de mariscos, no tienen ningún color propio, y, para hacerlos más atractivos deben colorearse artificialmente. El coloreado también contribuye a la identificación visual del producto por parte del consumidor, y en muchos casos un buen proceso de coloreado puede condicionar el éxito o fracaso comercial de un producto (García, 2002).

**Figura 2:** Características de un colorante y un pigmento



**Fuente:** (“Anónimo”, 2012) citado por (Narváez, 2015)

**Elaborado por:** Revelo, M. 2015

La distinción entre natural y artificial, términos muy utilizados en las polémicas sobre la salubridad de los alimentos, es de difícil aplicación cuando se quiere hablar con propiedad de los colorantes alimentarios. En sentido estricto, solo sería natural el color que un alimento tiene por sí mismo. Esto puede generalizarse a los colorantes presentes de forma espontánea en otros alimentos y extraíbles de ellos, pero puede

hacer confusa la situación de aquellas sustancias totalmente idénticas pero obtenidas por síntesis química. También la de colorantes obtenidos de materiales biológicos no alimentarios, insectos, por ejemplo, y la de aquellos que pueden bien añadirse o bien formarse espontáneamente al calentar un alimento, como es el caso del caramelo (García, 2002).

#### 2.4.3.1. Clasificación de los colorantes naturales

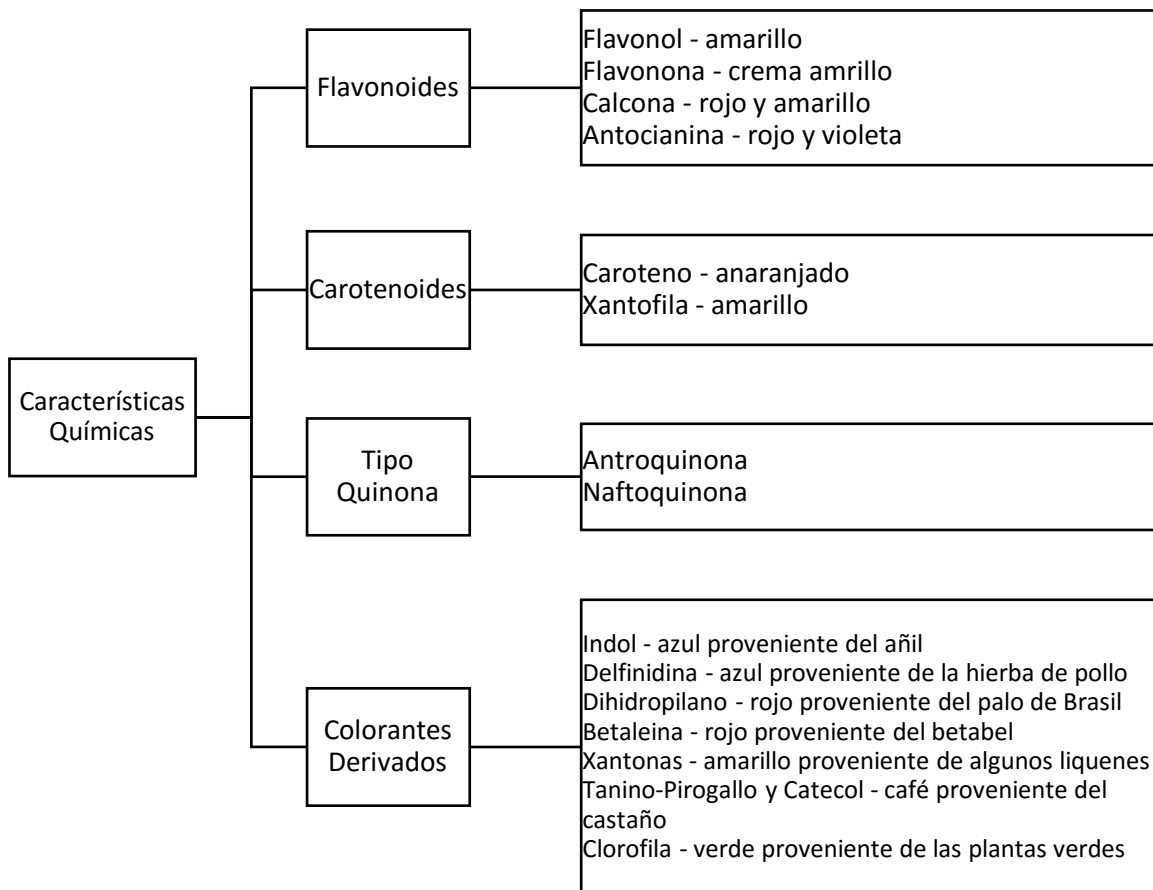
**Figura 3:** Clasificación según sus propiedades físicas

Directos	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Son los grupos de colorantes de antocianina, carotinoide, derivados de Calcona.</li> <li>•En ocasiones se utilizan sustancias auxiliares como ácidos o sales. Como ejemplo tenemos el azafrán.</li> </ul>
Mordentados	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Esta técnica se aplica a las plantas que sirven para teñir como la gardenia, cochinilla, palo de Campeche a través de una reacción de sales metálicas que reaccionan por medio de la fibra.</li> </ul>
Tipo de reducción	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Materias colorantes que se encuentran en el interior de los cuerpos vegetales o animales, pero de forma insoluble, para darles solubilidad, se aplica una sustancia reductora, obteniéndose una solución incolora que se aplica a la fibra y después, mediante una oxidación aparece el color.</li> </ul>
Pigmentos	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Polvos de materiales minerales que no tienen el poder de entintar, por lo cual solo pueden utilizarse mezclándose con otro cuerpo, como el engrudo, cola resina, clara de huevo, con los que forma una pasta para pintar.</li> </ul>

**Fuente:** (Yoshico, 1996) citado por (Narváez, 2015)

**Elaborado por:** Revelo, M. 20015

**Figura 4:** Clasificación según sus características químicas



**Fuente:** (Montoya, Ortiz, Meza y Magdalena, 2009) citados por (Narváez, 2015)

**Elaborado por:** Revelo, M. 2015

**Figura 5:** Clasificación según sus propiedades químicas

<b>Tipo</b>	<b>Características</b>
Ácidos	La eosina, colorante cargado en forma negativa, se une a componentes celulares cargados positivamente. Estos componentes cargados positivamente se denominan acidófilos, porque tienen afinidad por los colorantes ácidos.
Básicos	El azul de metileno, colorante cargado positivamente, se une a componentes cargados negativamente. Estos componentes cargados negativamente se denominan basófilos, porque tienen afinidad por los colorantes básicos.
Neutros	El eosinato de azul de metileno, colorante en que la porción ácida y la básica colorean. Tiñen las partes básicas de una célula de un color y las partes ácidas de otro. Tiñen el núcleo de un color y el citoplasma de otro.
Indiferentes	El colorante suda, un colorante de lípidos, que tiñe aquellas estructuras o sustancias que los disuelven más fácilmente que el líquido en que están preparados.
Cromóforos	La mayoría de los colores que ocurren en la naturaleza se deben a la absorción de ciertas longitudes de onda de luz visible por los compuestos orgánicos. Ciertos tipos de estructuras orgánicas tienden a originar color mientras que otras no lo hacen.
Auxócromos	Las naftoquininas son colorantes y antraquinonas son colorantes muy comunes. La juglona es una naftoquinona responsable, en parte, del color de las cáscaras de nuez. Una antraquinona típica el ácido cárnico, es el principal pigmento rojo de la cochinilla constituida por los cuerpos molidos del insecto.

**Fuente:** (Correa, 2011) citado por (Narváez, 2015)

**Elaborado por:** Revelo, M. 2015

#### 2.4.4. Dosis recomendadas de colorantes naturales

Se utilizan relativamente poco, solamente en algunos derivados lácteos, helados, caramelos, productos de pastelería y conservas vegetales (hasta 300 mg/kg), aunque están también autorizados en conservas de pescado (200 mg/kg), productos cárnicos, licores, sopas y bebidas refrescantes. En el queso rojo se usa en cantidad que permite las BPM. Como los demás colorantes naturales, en bastantes casos no tienen más limitación legal a su uso que la buena práctica de fabricación, aunque esta situación tiende a cambiar progresivamente. Cuando se ingieren los antocianos son destruidos en parte por la flora intestinal. Los absorbidos se eliminan en la orina, muy poco, y fundamentalmente en la bilis, previas ciertas transformaciones (Campos, 2008).

#### 2.4.5. Extracción de colorantes

En el caso de las antocianinas, se debe maximizar la extracción de pigmentos, minimizar los compuestos adjuntos extraídos y limitar la degradación o alteración del estado natural del extracto (Zapata, 2014).

Para las extracciones comúnmente se utilizan frutos desecados, liofilizados o incluso congelados, o también por maceración del fruto fresco. Comúnmente en la extracción de antocianos partiendo de frutos se utiliza metanol o etanol con una pequeña cantidad de ácido cítrico con el objetivo de mantener estable el catión flavilio, así pues, la extracción se basa en la maceración repetida, a bajas temperaturas y en periodos de hasta 24 horas, si la extracción resulta ser más prolongada puede ocasionar la oxidación por aire o luz (Hidalgo, 2012).

La extracción sólido-líquido implica la separación del componente deseado (el soluto) de un alimento mediante un líquido (el disolvente), que es capaz de disolver el soluto. Esto conlleva mezclar el alimento y el disolvente en una o varias etapas y durante un tiempo determinado para después separar el alimento del disolvente. Durante el tiempo de contacto se produce una transferencia de masa de soluto desde el alimento hasta el disolvente. Esta transferencia tiene lugar en tres etapas: primero, el soluto se disuelve en el disolvente, segundo, la disolución se mueve a través de la partícula del alimento hasta su superficie, y tercero, la disolución se dispersa en toda la masa del disolvente (Fellows, 2007) citado por (Torres, 2015).

La extracción sólido-líquido recibe diferentes nombres dependiendo de la finalidad del proceso; así, se le conoce también como lixiviación, lavado, percolación, etc. La finalidad de esta operación puede ser diversa pues en algunos casos es necesario eliminar algún componente no deseable de un sólido mediante disolución con un líquido, denominándose lavado a este método de extracción. Sin embargo, en otros casos se desea obtener un componente valioso que está contenido en un sólido, disolviéndolo con un líquido, denominándose a esta operación lixiviación. El término percolación se refiere al modo de operar, vertido de un líquido sobre un sólido, más que al objetivo perseguido (Ibarz & Barbosa, 2005).

El conocimiento de los factores involucrados en su estabilidad y de los mecanismos de degradación es sumamente vital para una eficiente extracción, purificación y uso de las antocianinas como colorantes de alimentos (Zapata, 2014).

#### 2.4.5.1. Factores que determinan la extracción de colorantes

La extracción de pigmentos naturales, debe llevarse a cabo teniendo en cuenta los factores que pueden afectar la integridad de los mismos; por lo cual este es un paso muy importante debido a que los resultados obtenidos dependen del proceso de extracción realizado (Santacruz, 2011) citado por (Torres, 2015). Entre los factores tenemos:

- La temperatura de extracción

El aumento de temperatura eleva tanto la velocidad de disolución como la de difusión del soluto en el seno del disolvente. La temperatura está limitada en la mayoría de los casos a 100 °C por consideraciones económicas, porque se produce la extracción de componentes indeseables o porque se produce deterioro de los componentes del alimento (Fellows, 2007) citado por (Torres, 2015).

- El área superficial de sólido expuesta al disolvente

La velocidad de transferencia de masa es directamente proporcional al área superficial, de forma que una reducción del tamaño de partícula, y por lo tanto un aumento del área superficial, provocara un aumento de la velocidad de extracción hasta cierto límite (Fellows, 2007) citado por (Torres, 2015).

- La viscosidad del disolvente

Esta debería ser suficientemente baja como para permitir que el disolvente penetre fácilmente en el lecho de partículas sólidas (Fellows, 2007) citado por (Torres, 2015).

## 2.5. VOCABULARIO TÉCNICO

**Fertilización.-** Es el proceso a través del cual se prepara la tierra añadiéndole diversas sustancias que tienen el objetivo de hacerla más fértil y útil a la hora de la siembra y la plantación de semillas.

**Malezas.-** Son plantas indeseables que crecen como organismos macroscópicos junto con las plantas cultivadas, a las cuales les interfieren su normal desarrollo.

**Antocianinas.-** son pigmentos naturales que pueden ir del azul al rojo; las antocianinas están presentes en las hojas, los pétalos, los frutos – a los que también les dan su color rojo. Soluble en medios acuosos, también son excelentes colorantes naturales y también se las conocen por sus propiedades antioxidantes.

**Flavonoides.-** Son pigmentos vegetales con un marcado poder antioxidante, que previenen el envejecimiento celular y los procesos degenerativos. Su estructura química es variada: fenoles, índoles, alilsulfuros, etc.

**Carotenoides.-** Son pigmentos orgánicos del grupo de los isoprenoides que se encuentran de forma natural en plantas y otros organismos fotosintéticos como algas, algunas clases de hongos y bacterias. Se conoce la existencia de más de 700 compuestos pertenecientes a este grupo.

**Colorantes.-** Son sustancias de origen químico o biológico, generalmente tintes, pigmentos, reactivos u otros compuestos, empleados en la coloración de tejidos microorganismos para exámenes microscópicos, debiendo tener al menos, un grupo cromóforo que le proporcione la propiedad de teñir.

**Pigmento.-** es la sustancia que se emplea para colorear una pintura, un barniz, un esmalte, etc. Su acción se produce al modificar el color de la luminosidad reflejada, ya que absorbe parcialmente dicha tonalidad e irradia otra.

**Inocuo.-** Es la condición de los alimentos que garantiza que no causaran daño al consumidor cuando se preparen y / o consuman de acuerdo con el uso al que se destinan.

## **2.6. HIPÓTESIS**

### 2.6.1. Hipótesis Alternativa (Ha)

Es factible la obtención de un pigmento estable de la semilla de dos variedades de aguacate, Hass y Fuerte, para su posterior utilización en la industria alimentaria.

### 2.6.2. Hipótesis Nula (Ho)

No es factible la obtención de un pigmento estable de la semilla de dos variedades de aguacate, Hass y Fuerte, para su posterior utilización en la industria alimentaria.

## 2.7. VARIABLES

### 2.7.1. Dependiente:

Estabilidad del pigmento extraído de la semilla de las dos variedades de aguacate Hass y Fuerte.

### 2.7.2. Independiente:

Factores que influyen sobre la variable dependiente y que se probaron durante este estudio, son:

- pH: 4, 5, 6
- Temperatura: 4 y 14 °C
- Exposición: luz y oscuridad

Yogurt Natural con diferentes dosis de colorante natural, extraído de la semilla de aguacate de las variedades Hass y Fuerte.

- 3 ml de colorante / Litro de Yogurt
- 5 ml de colorante / Litro de Yogurt
- 7 ml de colorante / Litro de Yogurt

## **3. METODOLOGÍA**

### **3.1. MODALIDAD DE LA INVESTIGACIÓN.**

La presente investigación es cuali-cuantitativa debido a que se va a manejar la descripción de las cualidades del pigmento además de la medición de algunas características del mismo.

Además se estableció el comportamiento del pigmento ante distintos ambientes como es pH, temperatura, exposición a la luz, adicionalmente un análisis físico-químico del yogurt coloreado con el pigmento extraído y por último se establece rendimientos y costos de producción.

### **3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN.**

Esta investigación tiene un carácter exploratorio ya que se intenta generar conocimientos que permitan incrementar investigaciones sobre el tema.

Es aplicada debido a que se intenta resolver una problemática, primero en la aplicación de pigmentos naturales en lugar de los pigmentos sintéticos por parte de las industrias alimentarias y segundo el disminuir la contaminación ambiental por parte de las industrias que realizan la transformación del aguacate pero que no le otorgan un valor agregado a los desechos que se obtienen de los distintos procesos que se realizan en estas industrias.

La presente investigación es bibliográfica ya que se explora lo que se ha escrito en la comunidad científica sobre el tema de investigación.

Además es experimental debido a que se observa y se enfrenta el problema mediante la experimentación, es decir con ensayos llevados a cabo siguiendo un diseño experimental con una serie de instrumentos que ha de generar el estudio.

### 3.3. POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN.

**Población:** Se estableció que para la primera fase en la que se evaluó la estabilidad del pigmento obtenido, se preparen 12 muestras que van a ser sometidas a distintas condiciones como son: pH, temperatura y exposición a la luz u oscuridad.

El experimento tuvo un total de 12 unidades experimentales, cada una con un peso de 250 g de yogurt natural con adición de colorante extraído de las dos variedades de semilla de aguacate (*Persea americana* var. Hass y *Persea americana* var. Fuerte), de esta manera se establece un número de 3 tratamientos y 4 repeticiones.

**Tabla 6:** Distribución de tratamientos y repeticiones para concentraciones de colorante de semilla de aguacate (*Persea americana* var. Hass y *Persea americana* var. Fuerte) en yogurt natural.

R1	T1	T2	T3	T0
R2	T2	T3	T0	T1
R3	T3	T0	T1	T2
R4	T0	T1	T2	T3

**Elaborado por:** Revelo, M. (2015)

**T0:** Testigo comercial

**T1:** 3 ml de colorante / Litro de yogurt natural

**T2:** 5 ml de colorante / Litro de yogurt natural

**T3:** 7 ml de colorante / Litro de yogurt natural

**R:** Repeticiones

**Muestra:** Para la muestra se considera el total de la población anteriormente mencionada.

### 3.4. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Tabla 7: Operacionalización de Variables

HIPÓTESIS	VARIABLES	DIMENSIONES	INDICE	INDICADORES	INSTRUMENTO	INFORMANTE
Es viable la obtención de un pigmento estable de la semilla de dos variedades de aguacate, Hass y Fuerte, para su utilización en la industria alimentaria.	<b>V.D.</b> Estabilidad del pigmento extraído de la semilla de las dos variedades de aguacate Hass y Fuerte.	Caracterización del pigmento	Determinación del rango máximo de absorción	Rango de absorción 330 nm – 900 nm	Espectrofotometría	Investigador
	<b>V.I.</b> Factores que influyen sobre la variable dependiente y que se probaron durante este estudio, son: pH, temperatura y exposición.	Análisis de estabilidad	Determinación de la espectrofotometría del colorante	pH: 4, 5, 6 Temperatura: 4, 14 °C Exposición: luz y oscuridad	Espectrofotometría	Investigador

	Yogurt con diferentes dosis de colorante natural, extraído de la semilla de aguacate de las variedades Hass y Fuerte.	Concentraciones del colorante extraído de la semilla de aguacate de las variedades Hass y Fuerte	Cantidad de colorante / L de yogurt	3 ml de colorante / Litro de yogurt 5 ml de colorante / Litro de yogurt 7 ml de colorante / Litro de yogurt	Aplicación del colorante en diferentes concentraciones	Investigador
--	---	--	-------------------------------------	---	--	--------------

**Elaborado por:** Revelo, M. (2014)

## 3.5. RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN

### 3.5.1. Información Bibliográfica

En lo referente al aguacate se recopiló información de libros, monografías, publicaciones de revistas científicas y páginas web y para los aditivos, específicamente dirigido a los colorantes sean estos naturales o artificiales además de métodos de extracción, se tuvo en cuenta información de libros, páginas web, tesis y artículos técnicos.

### 3.5.2. Información Procedimental

#### 3.5.2.1. Extracción y rendimiento del colorante

Para la presente investigación se realizó la recolección de la materia prima, semillas de aguacate (*Persea americana* var. Hass y *Persea americana* var. Fuerte), en la empresa UYAMAFARMS S.A. ubicada en la ciudad de Mira. Para la extracción del colorante de la semilla de aguacate Hass y Fuerte se realizaron diferentes pruebas preliminares, para determinar la técnica más adecuada en lo referente al tratamiento de la materia prima; resultando la mejor técnica la descrita en la Figura 6.

Luego de realizar las pruebas preliminares, se procedió a extraer todo el colorante necesario para aplicar en los diferentes tratamientos con las respectivas repeticiones.

El rendimiento obtenido del método de extracción se calculó con la siguiente fórmula:

$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{masa del colorante obtenido}}{\text{masa inicial de la pepa molida}} \times 100$$

Los rendimientos que se obtuvieron al extraer el colorante fueron los siguientes:

**Tabla 8:** Rendimientos en la extracción del colorante de la semilla de aguacate (*Persea americana* var. Hass y *Persea americana* var. Fuerte)

<b>Rendimientos en la extracción del colorante de la semilla de aguacate variedades Hass y Fuerte</b>		
Cantidad de semilla molida (g)	Cantidad de colorante obtenido (g)	Rendimiento (%)
1400	57.01	4.07

**Fuente:** Revelo, M. (2015)

### 3.5.2.2. Estabilidad del colorante

Luego de realizar la extracción del colorante se procedió a distribuir las muestras con el objetivo de determinar las condiciones en las que el pigmento fue más estable, determinando el porcentaje de pigmento retenido en las muestras sometidas a las condiciones planteadas en la investigación. A continuación se detalla el procedimiento para evaluar la estabilidad del colorante.

- **Temperatura:** se establecieron temperaturas de 4 °C, para lo cual se utilizó un refrigerador y 14 °C, que corresponde a la temperatura ambiente, todo esto debido a que, la mayoría de alimentos son almacenados a estas temperaturas.
- **pH:** se probaron valores de pH (4, 5 y 6), debido a que, estos valores oscilan en la mayoría de los alimentos que se consumen.
- **Luz:** las muestras se mantuvieron en dos ambientes; oscuridad, cubiertos con papel aluminio y expuestas a la luz, sin protección.

**Tabla 9:** Distribución de muestras para el análisis de estabilidad

	<b>pH</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Exposición</b>
Muestra 1	4	4	Oscuridad
Muestra 2	4	4	Luz
Muestra 3	4	14	Oscuridad
Muestra 4	4	14	Luz
Muestra 5	5	4	Oscuridad
Muestra 6	5	4	Luz
Muestra 7	5	14	Oscuridad
Muestra 8	5	14	Luz
Muestra 9	6	4	Oscuridad
Muestra 10	6	4	Luz
Muestra 11	6	14	Oscuridad
Muestra 12	6	14	Luz

**Elaborado por:** Revelo, M (2015)

Con la finalidad de determinar el porcentaje de pigmento retenido en las muestras, se realizó lecturas espectrofotométricas, teniendo en cuenta que (Guerrero, 2011) afirma en su investigación que para el análisis espectrofotométrico se tomó la lectura en el espectrofotómetro a 530 nm. Por lo que se puede afirmar que son antocianinas del tipo de las cianidinas ya que tienen un rango máximo de absorción que va de 523 a 535 nm (Santacruz, 2011) citado por (Torres, 2015).

Para realizar la toma de datos de las muestras se empleó un Espectrofotómetro UV-Visible Lovibond, el procedimiento para la toma de datos fue el siguiente:

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

### 3.5.3. Factores de estudio

Para realizar las pruebas del colorante en el Yogurt se estableció que las dosis a ser aplicadas serian de **3, 5 y 7 ml / L de yogurt**.

Cabe señalar que antes de la dosificación del colorante al yogurt natural, se realizó la adición de la mermelada de durazno, para realizar los posteriores análisis.

En la investigación “Evaluación del pigmento obtenido de la semilla de dos variedades de aguacate (*Persea americana* var. *Hass* y *Persea americana* var. *Fuerte*) como alternativa de uso en la industria de alimentos”. Se detallan los factores en estudio en la siguiente tabla:

**Tabla 10:** Factores en estudio

<b>FACTOR</b>	<b>SIMBOLOGIA</b>
A: Dosis de colorante	D
3 ml	D1
5 ml	D2
7 ml	D3
B: Efectos colorante en el Yogurt	E
Sólidos solubles	E1 SS
pH	E2 pH
Acidez	E3 A

**Elaborado por:** Revelo, M. (2015)

### 3.5.4. Tratamientos en estudio

Para la evaluación de la estabilidad del colorante, se establecieron diferentes dosis de colorante (3, 5 y 7 ml / L) para la coloración del Yogurt de Durazno frente a un testigo comercial, de esta manera se implantaron 3 tratamientos con cuatro repeticiones, más el testigo comercial, modelados bajo un diseño experimental Completamente al Azar

### 3.5.5. Diseño Experimental

#### 3.5.5.1. Tipo de diseño.

Se aplicó un Diseño Completamente al Azar (D.C.A) ya que la condiciones durante el proceso estaban controladas, en este diseño el factor A representa las dosis de colorante y el factor B los efectos del colorante en el yogurt; obteniéndose de esta manera un arreglo factorial de AxB, logrando como resultado 3 tratamientos más el testigo en los cuales se realizó 4 repeticiones dando como resultado un total de 16 unidades experimentales.

Para realizar los respectivos análisis de pH, acidez y solidos solubles, se determinó que cada unidad experimental tenga un peso de 250 g.

#### a. Características del ensayo

Se aplicó el factorial AxB, siendo A las dosis de colorante aplicadas en el Yogurt, y B los efectos del colorante en el Yogurt (pH, acidez y sólidos solubles).

**Tabla 11:** Características del ensayo

Yogurt coloreado y almacenado en refrigeración (5 °C)	
Repeticiones	4
Tratamientos	4
Unidades experimentales	16

**Elaborado por:** Revelo, M. (2015)

**Características:** La unidad experimental tuvo un peso de 250 g de yogurt natural con la adición de saborizante de durazno, luego se aplicó el colorante extraído de la semilla de dos variedades de aguacate (*Persea americana* var. Hass y *Persea americana* var. Fuerte) con sus respectivas dosis.

### **3.5.6. Variable a evaluar**

#### **3.5.6.1. Variables Cuantitativas**

##### **En Yogurt:**

- a. pH
- b. Acidez
- c. Sólidos solubles

##### **a. pH**

Para la medición de pH se procedió a utilizar un pH-metro digital, el cual indica una lectura directa de los resultados.

##### **b. Acidez titulable**

Según la norma INEN 710, "Yogurt Requisitos", establece que la acidez del Yogurt debe ser expresada en porcentaje de ácido láctico en Grados Dornic (°D), para lo cual se procedió a preparar la solución de hidróxido de sodio al 0,1N y se colocó esta solución en un acidómetro para así poder realizar la titulación, a continuación se toma una muestra de 9 ml yogurt en un vaso de precipitación y se adiciona 3 gotas de fenolftaleína, se agita la muestra y gota a gota se va colocando la solución de hidróxido de sodio hasta observar un cambio de color a rosáceo, en ese momento se realiza la lectura del valor obtenido en el acidómetro.

##### **a. Sólidos solubles**

Para realizar la medición de sólidos solubles se utiliza un Brixómetro manual con escala de 0 – 32, se procede colocando una gota de Yogurt en la placa de vidrio del Brixómetro y se observa el valor que indica el mismo.

### 3.5.7. Métodos Específicos del Manejo del Ensayo

#### 3.5.7.1. Materiales

- Recipientes plásticos
- Colador
- Vasos de plástico de 1 oz
- Varilla de agitación
- Vasos de precipitación de (80 ml, 1000 ml, 2000 ml)
- Matraz Erlenmeyer de 250 ml
- Cajas Petri
- Embudos de vidrio
- Papel aluminio
- Papel filtro
- Mortero y pistilo

#### 3.5.7.2. Equipos

- Balanza gramera capacidad 500 g
- Baño María
- Alcoholímetro
- Rotavapor
- Estufa
- Deshidratador
- Molino manual
- Refrigeradora
- pH-metro
- Acidómetro
- Brixómetro escala 0 – 32

#### 3.5.7.3. Materia Prima

- Semilla de aguacate, variedades (*Persea americana* var. Hass y *Persea americana* var. Fuerte)
- Yogurt Natural
- Mermelada de durazno

#### 3.5.7.4. Reactivos

- Hidróxido de sodio
- Fenolftaleína
- Ácido cítrico
- Etanol 90° de pureza

**3.5.7.5. Formulación para la obtención del colorante de la semilla de aguacate (*Persea americana* var Hass y *Persea americana* var. Fuerte).**

En la tabla 12, se detalla la cantidad de semilla molida de las variedades de aguacate Hass y Fuerte, como también la cantidad de ácido cítrico, que se utiliza para la extracción del colorante natural en 1 L de etanol, relación (p/v).

**Tabla 12:** Formulación para obtención de colorante de la semilla de aguacate variedades Hass y Fuerte

<b>Materia Prima</b>	<b>Cantidad</b>
Etanol 90°	1000 ml
Semilla molida de aguacate variedades Hass y Fuerte	500 g
Ácido Cítrico	0.30 g

**Elaborado por:** Revelo, M. (2015)

**3.5.7.6. Formulación para establecer los tratamientos y medir los efectos del colorante extraído de la semilla de dos variedades de aguacate (*Persea americana* var Hass y *Persea americana* var. Fuerte).**

En la tabla 13, se detalla la cantidad de materia prima establecida para realizar la adición del saborizante de durazno y la dosificación de los respectivos tratamientos con colorante extraído de la semilla de aguacate, variedades Hass y Fuerte, en Yogurt Natural.

**Tabla 13:** Formulación para T1, T2 y T3.

	<b>Materia Prima</b>	<b>Cantidad</b>
<b>T1</b>	Yogurt Natural	1000 ml
	Colorante de la semilla de aguacate	3 ml
	Saborizante de durazno	300 g
	<b>Materia Prima</b>	<b>Cantidad</b>
<b>T2</b>	Yogurt Natural	1000 ml
	Colorante de la semilla de aguacate	5 ml
	Saborizante de durazno	300 g
	<b>Materia Prima</b>	<b>Cantidad</b>
<b>T3</b>	Yogurt Natural	1000 ml
	Colorante de la semilla de aguacate	7 ml
	Saborizante de durazno	300 g

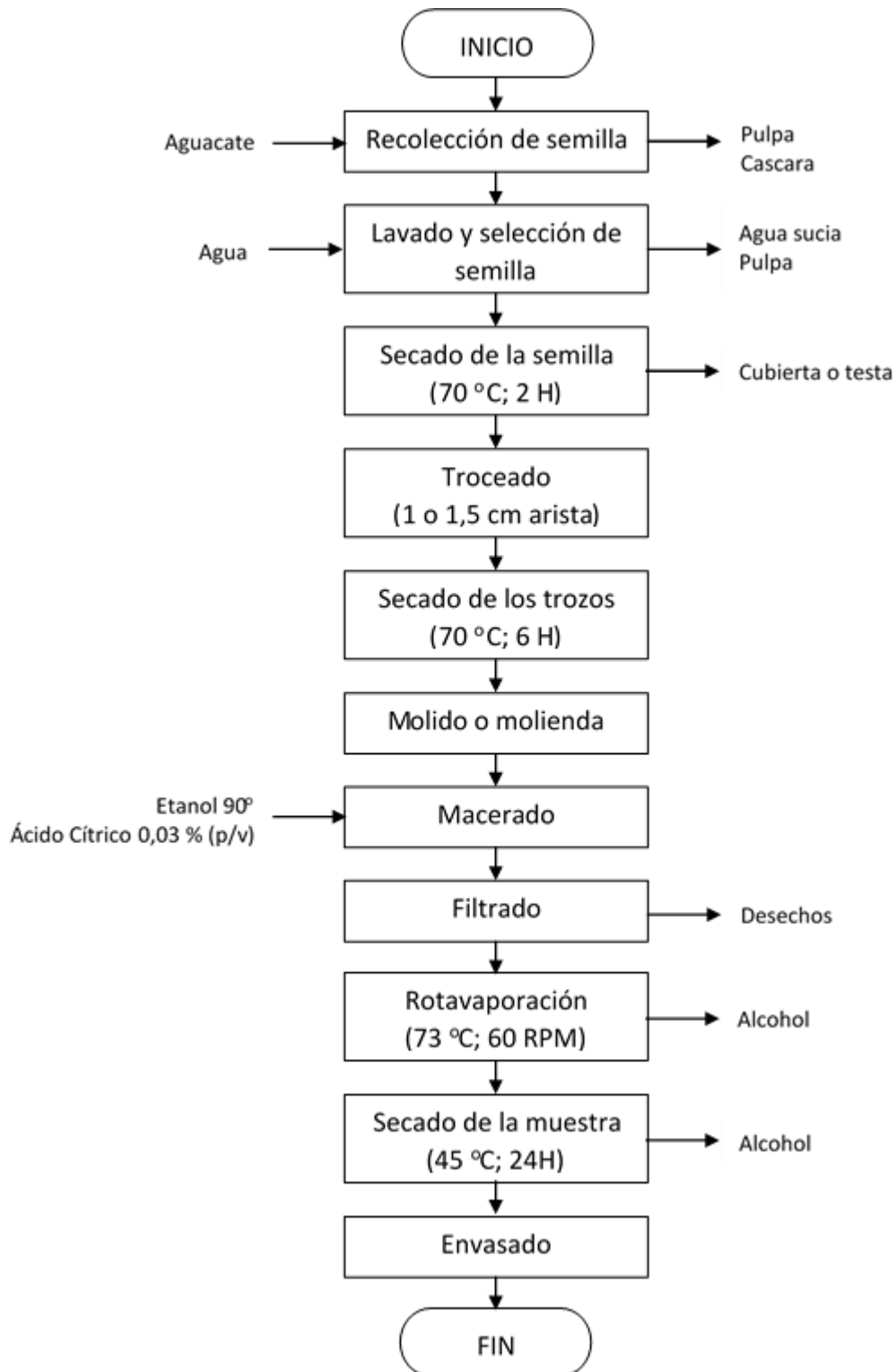
**Elaborado por:** Revelo, M. (2015)

3.5.8. Proceso de obtención del colorante de la semilla de aguacate, variedades (*Persea americana* var. Hass y *Persea americana* var. Fuerte)

La extracción del colorante a partir de la semilla de dos variedades de aguacate (*Persea americana* var. Hass y *Persea americana* var. Fuerte) se llevó a cabo usando como disolvente Etanol – Ácido Cítrico.

Para la preparación del disolvente se tuvo en cuenta la metodología establecida por (Mendez, 2008) citado por (Cano, 2011), en la que sugiere, utilizar etanol con un grado de pureza de 90° y una concentración de Ácido Cítrico en relación peso / volumen (0.03 %). En la figura 6 se describe el proceso que se llevó a cabo en la extracción.

**Figura 6:** Flujograma del proceso de extracción de colorante natural a partir de la semilla de aguacate variedades Hass y Fuerte utilizando alcohol 90° – Ácido Cítrico 0.03% (p/v)



Elaborado por: Revelo, M. (2015)

### **3.5.8.1. Recepción de materia prima**

Esta fue recolectada manualmente, en la empresa UYAMAFARMS S.A. ubicada en la ciudad de Mira de la provincia del Carchi, en donde estas variedades de aguacate han sido adaptadas y tienen una amplia propagación a lo largo de esta ciudad.

### **3.5.8.2. Lavado y selección**

Se realizó en la planta antes del proceso de despulpado que la empresa realiza al aguacate, se fue cortando el aguacate por la mitad teniendo cuidado de no lastimar la semilla para después realizar el lavado con agua para eliminar restos de la pulpa del aguacate, posterior a esto se seleccionó las semillas que mantengan una buena calidad física con el fin de tener una materia prima de calidad y que no se vean alterados los datos de la investigación. Por último se colocó las semillas en fundas plásticas y se las trasladó a los laboratorios de la Universidad para continuar con el proceso de obtención del colorante natural.

### **3.5.8.3. Secado y troceado de la semilla**

El secado se lo realizó en dos partes: la primera es con la finalidad de facilitar la extracción de la cubierta o testa de la semilla, para esto se colocó la semilla en el deshidratador a 70 °C durante 2 horas, a continuación se realiza el pelado de la semilla y se lo trocea en cubos, aproximadamente 1 o 1,5 cm de arista.

Para realizar la segunda parte del secado, se coloca la pepa troceada en el deshidratador a 70 °C durante 6 horas con el objetivo de eliminar la mayor cantidad de agua que la semilla posee.

### **3.5.8.2. Molido o molienda**

Utilizando un molino manual se procedió a minimizar el tamaño de la pepa para así aumentar la superficie de contacto del soluto y poder realizar una mejor extracción.

### **3.5.8.3. Preparación del solvente**

Se midió 1000 ml de etanol en un vaso de precipitación y a continuación se pesó en la balanza gramera 0.3 g de ácido cítrico, para después colocar el ácido cítrico en el etanol y agitar hasta que el ácido cítrico se disuelva.

### **3.5.8.4 Maceración**

Una vez preparado el solvente en el vaso de precipitación, se adiciona la semilla molida en una cantidad de 500 g de semilla molida / L de solvente y se agita durante 5 minutos, a continuación, se coloca el vaso de precipitación en una funda de preferencia negra, con el fin de ayudar a evitar la degradación de antocianinas por efecto de la luz, para después dejar reposar durante 24 horas. Para ayudar a la extracción del colorante se agitó la preparación cada hora.

### **3.5.8.5. Filtración**

Una vez pasadas las 24 horas con la ayuda de una tela con porosidad mínima se realizó una primera filtración, después de esto, se introduce el embudo de vidrio en un matraz y se coloca papel filtro en el embudo, además se cubrió el matraz con ayuda de papel aluminio para impedir el ingreso de la luz, para continuar con una segunda filtración, de esta manera se eliminaron todos los sólidos de la solución.

### **3.5.8.6. Rotavaporación**

Se concentró la solución filtrada en un Rotavapor IKA<sup>®</sup> RV10 DS1 en el que a 73 °C y a 60 RPM inició la destilación del etanol, esto por un tiempo aproximado de una hora, hasta separar en su mayor cantidad la parte alcohólica de la solución.

### **3.5.8.7. Secado de la muestra**

Se lo realizó con la finalidad de extraer al máximo la parte líquida de la muestra y así obtener el colorante natural, para ello la muestra restante de la rotavaporación se la colocó en cajas Petri en una cantidad aproximada de 15 a

20 ml, lo que se busca es que el líquido cubra solamente la base de la caja Petri, para después colocarlas en la estufa a 45 °C durante 24 horas.

Después se realizó un raspado de las placas y se pesó el producto obtenido para realizar los respectivos cálculos de rendimiento y a continuación se envasó el producto obtenido.

3.5.9. Proceso para evaluar las propiedades físico-químicas del yogurt coloreado con el pigmento extraído.

Se procedió a obtener para cada tratamiento 1000 ml de Yogurt Natural, para añadir no más del 30 % de mermelada de durazno que servirá como saborizante natural.

Se agita constantemente el Yogurt Natural con la mermelada adicionada hasta que se homogenice la muestra, y se procede a colocar las dosis de colorante obtenido de la semilla de dos variedades de aguacate (*Persea americana* var. Hass y *Persea americana* var. Fuerte) para cada tratamiento; las dosis aplicadas fueron 3, 5 y 7 ml / L de Yogurt Natural, las mismas que fueron comparadas frente a un Yogurt comercial de durazno.

Para poder realizar la medición de los tratamientos establecidos se almacenó las muestras en refrigeración a 5 °C, durante un tiempo de 30 días, todo esto en envases de plástico tapados. Cada muestra con un peso de 250 g.

En el transcurso de los 30 días se realizó la toma de datos semanalmente en las variables cuantitativas establecidas como son: pH, acidez y sólidos solubles.

## 3.6. PROCESAMIENTO, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

### 3.6.1. Análisis de resultados

En la investigación: “Evaluación del pigmento obtenido de la semilla de dos variedades de aguacate (*Persea americana* var. *Hass* y *Persea americana* var. *Fuerte*) como alternativa de uso en la industria de alimentos” se obtuvo los siguientes resultados.

#### 3.6.1.1. Análisis de la materia prima

En la tabla 14 se muestran los resultados del análisis físico-químico de la materia prima semilla de aguacate molida de las variedades (*Persea americana* var. *Hass* y *Persea americana* var. *Fuerte*)

**Tabla 14:** Análisis físico-químico de la materia prima semilla molida de aguacate

Parámetro Analizado	Método de ensayo	Unidad	Resultado
Humedad	AOAC 925.10	%	18,26
Cenizas	AOAC 923.03	%	2,14
Proteína Total	AOAC 920.87	%	3,2
Extracto etéreo	AOAC 920.85	%	2,20
Fibra Bruta	AOAC 978.10	%	4,76
Carbohidratos	Cálculo	%	74,20
Calcio	Espectrofotometría A.A.	mg / 100 g	27
Hierro		mg / 100 g	0,85

**Fuente:** Laboratorios UTN (2015)

**Elaborado por:** Revelo, M. (2015)

Según (Pahua, Ortiz, Chamorro, & Garduño, 2007) la semilla de aguacate en su estado fresco presenta una humedad de 47.5 g/100g, proteína de 2.6 g/100g, fibra de 3.5 g /100g y extracto etéreo de 2.4 g/100g.

Con el análisis que se le hizo a la muestra de la semilla de aguacate recogida en el laboratorio se pudo notar un cambio en la humedad de la semilla, esto debido a que el dato bibliográfico es de la semilla de aguacate en fresco, en cambio, la muestra enviada en la investigación paso por un proceso de secado ya que de este proceso dependía el éxito de la extracción del colorante natural obtenido.

Presenta el 0.59 % de cenizas, que las que contienen los elementos inorgánicos, muchos de los cuales son de interés nutricional como es el caso del calcio, fósforo, también representan el contenido de minerales del alimento; en general, las cenizas suponen menos del 5 % de la materia seca de los alimentos (Peña, 2010) citado por (Narváez, 2015), así pues en el análisis se pudo obtener hierro 0.85 mg/100g y calcio 27 mg/100g.

En lo referente a proteína la semilla molida de aguacate tiene 3.2 % y carbohidratos de 74.2 % así pues se puede decir que según (Fruta, 2014) citado por (Narváez, 2015), el contenido de glúcidos puede variar según la especie y también según la época de recolección. Los carbohidratos son generalmente azúcares simples como fructosa, sacarosa y glucosa, azúcares de fácil digestión y rápida absorción.

La cantidad de grasa de la muestra fue de 2.2 % cantidad relativamente baja si se tiene en cuenta que la pulpa del aguacate contiene una cantidad de grasa de 18.4 g/100g (Bartoli, 2008) siendo esta es la principal propiedad que tiene el aguacate para su industrialización.

El contenido de fibra que la semilla molida de aguacate presentó fue de 4.76 %.

#### **3.6.1.2. Análisis de estabilidad del colorante extraído.**

La estabilidad del pigmento se realizó a diferentes pH (4, 5, 6); temperatura (4, 14 °C) y ambientes de almacenamiento (expuesto a la luz y en oscuridad), realizando lecturas durante treinta días, repartidos en cuatro días de toma de datos, por medio del espectrofotómetro para determinar la o las condiciones en las que se tiene mayor estabilidad del pigmento.

Con los resultados obtenidos de las condiciones a las que fueron sometidas las muestras de pigmento de la semilla de dos variedades de aguacate Hass y Fuerte, se realizó el análisis estadístico del cual se obtuvo los siguientes resultados que se los presenta en (%) para una mejor visualización e interpretación de los datos obtenidos.

**Tabla 15:** Promedios (%), obtenidos en el análisis de estabilidad del pigmento

Muestra	pH	Temperatura	Exposición	1er Dato	2do Dato	3er dato	4to Dato	Promedio
1	4	4	Oscuridad	100	100	100	99,38	99,85
2	4	4	Luz	100	99,69	99,69	99,69	99,77
3	4	14	Oscuridad	100	99,69	98,76	98,14	99,15
4	4	14	Luz	100	98,44	97,20	95,03	97,67
5	5	4	Oscuridad	100	99,69	98,76	98,14	99,15
6	5	4	Luz	100	100	99,69	98,44	99,53
7	5	14	Oscuridad	100	98,41	95,56	93,65	96,91
8	5	14	Luz	100	99,68	98,39	96,46	98,63
9	6	4	Oscuridad	100	99,06	95,63	93,75	97,11
10	6	4	Luz	100	99,69	96,27	94,72	97,67
11	6	14	Oscuridad	100	99,69	98,76	97,52	98,99
12	6	14	Luz	100	98,13	96,27	93,17	96,89

**Elaborado por:** Revelo, M (2015)

### Efecto del pH

Al analizar estadísticamente los valores obtenidos, se observa que las muestras no tuvieron diferencia significativa con respecto al porcentaje de pigmento retenido en función del pH, pero las muestras con pH 4 fueron las que lograron mantener una mayor retención con un porcentaje de 99,11 %, con respecto a los otros pH de 5 y 6, por lo tanto para conservar la estabilidad del pigmento es mejor mantener un pH de 4, ver tabla 16.

**Tabla 16:** Prueba de Tukey al 5 % para el porcentaje de pigmento retenido

Factor pH	Promedio (%)	Rango estadístico
4	99,11	A
5	98,56	A
6	97,67	A

**Elaborado por:** Revelo, M (2015)

En la tabla 17, se observan los valores promedios obtenidos en los cuatro días del tiempo de experimentación del porcentaje de pigmento retenido a los diferentes pH a los que fue sometido para evaluar su estabilidad, en donde, se puede identificar que a pH 4 se tiene una mayor estabilidad del pigmento, seguido por el de 5, y por último el de 6.

**Tabla 17:** Porcentaje de colorante retenido por días respecto al pH

Factor	Promedio porcentaje de retención			
pH	1er Dato	2do Dato	3er Dato	4to Dato
4	100	99,46	98,91	98,06
5	100	99,45	98,10	96,67
6	100	99,14	96,63	94,79

**Elaborado por:** Revelo, M (2015)

### Efecto de la Temperatura

Después de aplicar la prueba de Tukey, se observa que no existe diferencia significativa en lo que respecta al porcentaje de pigmento retenido para las muestras que fueron mantenidas a temperaturas de refrigeración y ambiente, con este resultado se puede apreciar que las temperaturas comprendidas entre 4 y 14 °C ayudan a mantener el color del pigmento ver tabla 18.

**Tabla 18:** Prueba de Tukey al 5 % para el porcentaje de pigmento retenido respecto a la temperatura

Temperatura	Promedio (%)	Rango estadístico
4	98,85	A
14	98,04	A

**Elaborado por:** Revelo, M (2015)

En la tabla 19, se muestran los promedios por días del porcentaje retenido a las diferentes temperaturas a las que fue sometido para evaluar su estabilidad, en donde se observa que las muestras de pigmento no presentaron mayor diferencia, corroborando así lo dicho anteriormente que el mantener el pigmento a bajas temperaturas ayuda a conservar la estabilidad del pigmento.

**Tabla 19:** Porcentaje de colorante retenido por días respecto a la temperatura

Factor	Promedio porcentaje de retención			
Temperatura	1er Dato	2do Dato	3er Dato	4to Dato
4	100	99,69	98,34	97,35
14	100	99,01	97,49	95,66

**Elaborado por:** Revelo, M (2015)

## Efecto de las Condiciones de Almacenamiento

Al analizar estadísticamente los resultados estos no fueron significativamente diferentes con respecto a la prueba de Tukey, sin embargo se pudo observar en el experimento que las muestras que se mantuvieron en oscuridad lograron mantener una mayor retención, ver tabla 20.

**Tabla 20:** Prueba de Tukey al 5 % para el porcentaje de pigmento retenido respecto a la exposición

Factor Exposición	Promedio (%)	Rango estadístico
Oscuridad	98,68	A
Luz	97,73	A

**Elaborado por:** Revelo, M (2015)

En la tabla 21, se puede apreciar los valores obtenidos por días del porcentaje de pigmento retenido a las diferentes condiciones de almacenamiento (en oscuridad y en presencia de luz), a las que fue sometido para evaluar la estabilidad, de esta manera se puede establecer que las muestras que se mantuvieron en oscuridad fueron las que lograron mantener una mayor retención, evidenciando así, que el pigmento es sensible a la luz.

**Tabla 21:** Porcentaje de colorante retenido por días respecto a la exposición

Factor Exposición	Promedio porcentaje de retención			
	1er Dato	2do Dato	3er Dato	4to Dato
Oscuridad	100	99,55	98,12	97,05
Luz	100	98,75	97,29	94,89

**Elaborado por:** Revelo, M (2015)

## Efecto de la interacción pH vs Temperatura

En la tabla 22, al analizar estadísticamente los resultados obtenidos mediante la prueba de Tukey, se observa que no existe diferencia significativa, sin embargo, en lo que tiene que ver a los promedios obtenidos se puede observar que a pH de 4 y 5 y temperatura de 4 °C existe un menor efecto en la degradación del

pigmento lo que nos indica que en las condiciones ya mencionadas existe una mejor estabilidad del pigmento.

**Tabla 22:** Prueba de Tukey al 5 % para el porcentaje de colorante retenido para la interacción pH vs Temperatura

Factor		Promedio (%)	Rango estadístico
pH	T°		
4	4	99,81	A
5	4	99,34	A
4	14	98,41	A
6	14	97,94	A
5	14	97,77	A
6	4	97,39	A

**Elaborado por:** Revelo, M (2015)

### Efecto de la interacción Exposición vs Temperatura

En la tabla 23, se presenta la prueba de Tukey para la interacción exposición vs temperatura en la que se observa un menor porcentaje de degradación en las muestras a 4 y 14 °C y en condiciones de oscuridad, sin embargo estos valores no difieren de las muestras a 4 °C y en condición de luz, esto debido a que para alcanzar y mantener la temperatura de 4 °C el pigmento tuvo que ser conservado en refrigeración.

**Tabla 23:** Prueba de Tukey al 5 % para el porcentaje de colorante retenido para la interacción Exposición vs Temperatura

Factor		Promedio (%)	Rango estadístico
Exposición	T°		
Luz	4	98,99	A
Oscuridad	4	98,70	A
Oscuridad	14	98,35	A
Luz	14	97,37	A

**Elaborado por:** Revelo, M (2015)

### Efecto de la Interacción Exposición, pH y Temperatura.

En la tabla 24, se muestra la prueba de Tukey para la interacción de las tres condiciones en estudio, así se determinó que el nexo entre la temperatura, pH y exposición son determinantes en la estabilidad del pigmento, con un porcentaje mayor en aquellas muestras que se mantuvieron en condiciones de oscuridad, pH 4 y 5, y temperaturas entre 4 y 14 °C. De esta manera se puede afirmar que las mejores condiciones para conservar la estabilidad del pigmento es mantener un pH de 4 o 5, temperaturas frías entre 4 y 14 °C y en oscuridad.

**Tabla 24:** Prueba de Tukey al 5 % para el porcentaje de colorante retenido para la interacción Exposición, pH y Temperatura.

Factor			Promedio (%)	Rango estadístico
Exposición	pH	T°		
Oscuridad	5	4	99,60	A
Luz	4	4	99,55	A
Oscuridad	4	4	99,47	A
Oscuridad	4	14	98,91	A
Luz	5	14	98,63	A
Luz	4	14	98,50	A
Luz	6	4	98,42	A
Luz	5	4	98,31	A
Oscuridad	6	14	97,78	A
Oscuridad	6	4	97,71	A
Oscuridad	5	14	97,67	A
Luz	6	14	96,74	A

Elaborado por: Revelo, M (2015)

#### 3.6.1.3. D.C.A. análisis funcional del diseño aplicado en la investigación

Para la realización de este análisis se estableció un periodo de 30 días en donde se llevó a cabo el seguimiento del yogurt con las diferentes dosis de colorante obtenido de la semilla de dos variedades de aguacate (*Persea americana* var. Hass y *Persea americana* var. Fuerte), manteniendo el Yogurt a una temperatura de refrigeración de 4 °C, y en donde se fue recolectando los datos de los parámetros establecidos como son: sólidos solubles, pH y acidez.

Se utilizó un diseño completamente al Azar (D.C.A), y pruebas de significancia Tukey al 5% para cada tratamiento.

**Tabla 25:** ADEVA D.C.A., grados de libertad de la investigación

Fuente de variación	Datos	Grados de libertad
Total	80	79
Tratamientos	4	3
Error		76

Elaborado por: Revelo, M. (2015)

A continuación se presentan los resultados.

### Solidos Solubles

**Tabla 26:** ADEVA para solidos solubles de Yogurt coloreado con colorante de la semilla de dos variedades de aguacate Has y Fuerte

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
G. BRIX	80	0,27	0,20	2,43

FV	SC	GI	CM	F	p-valor
Modelo	3,94	7	0,56	3,84	0,0013
TRATAMIENTO	0,14	3	0,05	0,31	0,8161
Error	10,55	72	0,15		
Total	14,49	79			
X	15,76				

Elaborado por: Revelo, M. (2015)

Una vez realizado el análisis de varianza para la variable sólidos solubles del Yogurt coloreado con colorante de la semilla de dos variedades de aguacate (*Persea americana* var. Hass y *Persea americana* var. Fuerte), en cada tratamiento evaluado semanalmente durante 30 días, el valor  $p= 0,8161$  del ANAVA sugiere que se acepta la hipótesis de igualdad de medias de tratamientos, es decir, no existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y con un promedio del experimento para la variable Grados Brix de 15,76.

**Tabla 27:** Prueba de Tukey al 5 % para sólidos solubles de Yogurt coloreado con colorante de semillas de dos variedades de aguacate Hass y Fuerte

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
3mlColorante	15,70	20	0,09	A
5mlColorante	15,75	20	0,09	A
7mlColorante	15,80	20	0,09	A
Comercial	15,80	20	0,09	A

**Elaborado por:** Revelo, M. (2015)

De acuerdo a la prueba de Tukey, ninguno de los tratamientos presenta diferencias estadísticamente significativas.

### Acidez

**Tabla 28:** ADEVA para la acidez de Yogurt coloreado con colorante de la semilla de dos variedades de aguacate Hass y Fuerte

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
ACIDEZ	80	0,13	0,05	3,92

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	113,28	7	16,18	1,59	0,1523
TRATAMIENTO	80,70	3	26,90	2,64	0,0557
Error	732,93	72	10,18		
Total	846,20	79			
X					

**Elaborado por:** Revelo, M. (2015)

Una vez realizado el análisis de varianza para la variable acidez del Yogurt coloreado con colorante de la semilla de dos variedades de aguacate (*Persea americana* var. Hass y *Persea americana* var. Fuerte), en cada tratamiento evaluado semanalmente durante 30 días, el valor  $p=0.05557$  del ANAVA sugiere que se acepta la hipótesis de igualdad de medias de tratamientos, es decir, no existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y con un promedio del experimento para la variable acidez de 81,35 °D.

**Tabla 29:** Prueba de Tukey al 5 % para acidez de Yogurt coloreado con colorante de la semilla de dos variedades de aguacate Hass y Fuerte

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
3mlColorante	80,05	20	0,71	A
5mlColorante	80,75	20	0,71	A
7mlColorante	82,00	20	0,71	A
Comercial	82,60	20	0,71	A

**Elaborado por:** Revelo, M. (2015)

De acuerdo a la prueba de Tukey, ninguno de los tratamientos presenta diferencias estadísticamente significativas para la variable acidez.

## pH

**Tabla 30:** ADEVA para pH de Yogurt coloreado con colorante de la semilla de dos variedades de aguacate Hass y Fuerte

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
pH	80	0,38	0,32	1,95

F.V.	SC	GI	CM	F	p-valor
Modelo.	0,29	7	0,04	6,35	<0,0001
TRATAMIENTO	0,26	3	0,09	13,39	<0,0001
Error	0,47	72	0,01		
Total	0,77	79			

**Elaborado por:** Revelo, M. (2015)

Una vez realizado el análisis de varianza para la variable pH del Yogurt coloreado con colorante de la semilla de dos variedades de aguacate (*Persea americana* var. Hass y *Persea americana* var. Fuerte), en cada tratamiento evaluado semanalmente durante 30 días, se pudo observar que si existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y con un promedio del experimento para la variable pH de 4,17.

**Tabla 31:** Prueba de Tukey al 5 % para pH de Yogurt coloreado con colorante de la semilla de dos variedades de aguacate Hass y Fuerte

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
5mlColorante	4,11	20	0,02	A
3mlColorante	4,11	20	0,02	A
7mlColorante	4,19	20	0,02	B
Comercial	4,25	20	0,02	B

**Elaborado por:** Revelo, M. (2015)

El valor  $p= 0,0001$  del ANAVA sugiere el rechazo de la hipótesis de igualdad de medias de tratamientos, es decir, existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos considerando la variable pH. De acuerdo a la prueba de Tukey los tratamientos que contienen 3 ml de colorante / L de Yogurt y el de 5 ml de colorante / L de Yogurt se encuentran en el rango A con promedios de pH 4,11 para los dos tratamientos, mientras que los tratamientos 7 ml de colorante y el testigo comercial se encuentran en el rango B con promedios de pH de 4,19 y 4,25 respectivamente.

### 3.6.1.3. Análisis económico

En este análisis se realizó el costo de producción para obtener 57.01 g de colorante natural, valor que está establecido en la tabla 8 en donde se determinó el rendimiento obtenido del método de extracción utilizado.

- **Costos variables:** Son los que varían en proporción directa con el volumen de producción.
- **Costos fijos:** Se consideran a los egresos que no sufren cambios cualquiera que sea el volumen de producción.

**Tabla 32:** Costos Variables de producción de colorante de la semilla de aguacate para la cantidad obtenida de 57,01 g

<b>COSTO DE PRODUCCIÓN DE COLORANTE NATURAL DE LA SEMILLA DE AGUACATE</b>						
<b>Insumos</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Costo variable</b>	<b>Cantidad utilizada</b>	<b>Unidad</b>	<b>V. unitario</b>	<b>Total</b>
Etanol	2000 ml	6	2200	ml	0,003	6,6
Ácido cítrico	2000 g	38	0,084	g	0,02	0
Papel Filtro	40 Unid.	4	5	Unid.	0,10	0,5
Mano de obra	1 persona(8h)	10	3	horas	1,25	3,75
<b>TOTAL</b>						<b>10,85</b>

**Elaborado por:** Revelo, M. (2015)

**Tabla 33:** Costos Fijos de producción de colorante de la semilla de aguacate para la cantidad obtenida de 57,01 g

<b>Suministro</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Costo fijo</b>	<b>Cantidad unitaria</b>	<b>Unidad</b>	<b>Valor unitario</b>	<b>Total</b>
Luz	1 kWh	0,08	7,12	kWh	0,08	0,57
Agua	1 m <sup>3</sup>	0,25	0,1	m <sup>3</sup>	0,25	0,03
Depreciación maquinaria	20 h	2,7	25	h	0,14	3,50
<b>TOTAL</b>						<b>4,10</b>

**Elaborado por:** Revelo, M. (2015)

**Tabla 34:** Costo final de colorante de la semilla de aguacate para la cantidad obtenida de 57,01 g

Costos variables	10,85
Costos fijos	4,10
<b>Sub total</b>	<b>14,95</b>
Imprevistos 10 %	1,49
<b>COSTO TOTAL</b>	<b>16,44</b>

**Elaborado por:** Revelo, M. (2015)

En la investigación “Evaluación del pigmento obtenido de la semilla de dos variedades de aguacate (*Persea americana* var. *Hass* y *Persea americana* var. *Fuerte*) como alternativa de uso en la industria de alimentos.”, se tiene un costo de producción para 4 ml de colorante natural a un valor de 1,15 USD, en tanto

que según (Colorantes para la Industria Alimenticia, s.f.) citado por (Narváez, 2015), el costo de producción de los 4 ml de colorante artificial es de 1 USD.

Como un último dato importante hay que tener en cuenta que el costo está calculado con una producción a mínimas cantidades, por lo que en el caso de producciones a gran escala el costo de producción podría reducirse, ya que según manifiesta (Economías de Escala, s.f.), cualquier situación de producción, incluso la prestación de servicios financieros, en la que el coste por unidad producida disminuye a medida que aumenta el número de unidades producidas.

### 3.6.2. Verificación de Hipótesis

Se acepta la hipótesis alternativa, es decir, es factible la obtención de un pigmento estable de la semilla de dos variedades de aguacate, Hass y Fuerte, para su posterior utilización en la industria alimentaria, pese a que desde el punto de vista económico su costo es relativamente más alto con relación al comercial.

## **4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.**

### **4.1. Conclusiones**

Se acepta la hipótesis alternativa, en la que se afirma que es viable la obtención de un pigmento estable de la semilla de dos variedades de aguacate, Hass y Fuerte, para ser utilizado en la industria alimentaria, teniendo en cuenta que no es factible comercialmente.

La extracción del colorante se ejecutó con el método etanol 90°-ácido cítrico en una relación peso/volumen al 0,03 % (Menéndez, 2008) citado por (Cano, 2011), para lo cual se inició con un peso de 1400 g de semilla molida, alcanzando así un rendimiento de 57.01 g de colorante, obteniéndose un porcentaje de 4,07 %.

En cuanto al análisis de estabilidad del pigmento en función del tiempo, se determinó que la interacción entre la temperatura, pH, ambientes de almacenamiento (presencia o ausencia de luz), son determinantes en la estabilidad del pigmento extraído de la semilla de dos variedades de aguacate Hass y Fuerte, estableciendo que las mejores condiciones para conservar su estabilidad es mantener un pH entre 4 – 5, temperaturas entre 4 – 14 °C y protegidos de la exposición a la luz

En el análisis físico-químico (pH, acidez y sólidos solubles) del yogurt de durazno coloreado con el pigmento extraído, los tratamientos de 3, 5, 7 ml colorante / 1 L de yogurt, no presentaron diferencias significativas, sin embargo, la dosificación de 7 ml colorante / 1 L de yogurt fue la que obtuvo mejor tonalidad con respecto al yogurt de durazno comercial.

La semilla de aguacate de las dos variedades utilizadas como son Hass y Fuerte, pueden ser empleadas como materia prima para la extracción de pigmento natural y ser aplicado como colorante en la industria alimentaria, considerando las condiciones para conservar su estabilidad y el método de obtención que debe garantizar la máxima extracción de los pigmentos con la mínima degradación del estado natural de los mismos.

El costo de producción del colorante natural extraído fue de 1,15 USD, resultando 0,15 USD más costoso que un colorante artificial, por lo que comercialmente su uso en la industria alimentaria aun no es factible desde esta perspectiva.

## **4.2. Recomendaciones**

Realizar investigaciones en donde se analice la utilidad del colorante en otros productos alimenticios y así poder ampliar la utilidad del colorante dentro de la industria alimentaria.

Incentivar el uso de colorantes naturales en la industria alimentaria y así disminuir riesgos de enfermedades a futuro por el consumo de alimentos con colorantes artificiales.

Investigar otras alternativas de uso en alimentos para la semilla de aguacate, no solo como colorante natural, sino también en el desarrollo de nuevos aditivos que se puedan extraer de este subproducto.

## 5. Bibliografía

- Badui, D. S. (1993). *Química de los alimentos*. México D.F.
- Bartoli, J. (2008). *Manual técnico del cultivo de aguacate Hass*. Honduras.
- Campos, C. (2008). *Guía de dosis de uso de los principales colorantes, conservantes y antioxidantes alimentarios*. Obtenido de [http://www.congregaciondelolivo.com/multimedia/datos/Aditivos\\_060638\\_230111\\_9360.pdf](http://www.congregaciondelolivo.com/multimedia/datos/Aditivos_060638_230111_9360.pdf)
- Cano, A. (2011). *Extracción y uso de tres pigmentos naturales a partir de tomate de árbol (Solanum betaceum Cav.), mortiño (Vaccinium mytillus L.) y mora de castilla (Rubus glaucus) como alternativa colorante natural para alimentos*. Obtenido de <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/4929/1/T-ESPE-IASA%20I-004583.pdf>
- Devia, J., & Saldarriaga, D. (2005). *Proceso para obtener colorante a partir de la semilla de aguacate*. Obtenido de <http://publicaciones.eafit.edu.co/index.php/revista-universidad-eafit/article/viewFile/836/745>
- Economías de Escala, s. (s.f.). *La Gran Enciclopedia de Economía*. Obtenido de <http://www.economia48.com/spa/d/economias-de-escala/economias-de-escala.htm>
- Fundacion vasca para la seguridad agroalimentaria. (2011). *Aditivos Alimentarios*. Obtenido de [http://www.elika.net/datos/articulos/Archivo\\_EN730/folleto\\_aditivos.pdf](http://www.elika.net/datos/articulos/Archivo_EN730/folleto_aditivos.pdf)
- García, M. (2002). *Aditivos alimentarios*. Obtenido de <http://www.uco.es/organiza/departamentos/bromatologia/nutybro/higiene-alimentaria/documentos/conferenciaaditivos.pdf>

- Garzón, G. (2008). *Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos*. Obtenido de <http://www.virtual.unal.edu.co/revistas/actabiol/PDF's/v13n3/v13n3a2.pdf>
- Guerrero, D. (2011). *Extracción y evaluación de un colorante natural a partir de la pepa de aguacate para el teñido de las fibras de algodón y poliéster*. Obtenido de <http://repo.uta.edu.ec/bitstream/handle/123456789/1757/SBQ%202%20Ref.3396?sequence=1>
- Hidalgo, M. (2012). *Antocianos: Metabolismo y actividad biológica*. Madrid.
- Ibarz, A., & Barbosa, G. (2005). *Operaciones unitarias en la ingeniería de alimentos*. México: Mundi-Prensa.
- INAMHI. (2012). *Anuario Meteorológico 2010*. Nro. 50. Obtenido de <http://186.42.174.231/publicaciones/Anuarios/Meteoro/Am%202010.pdf>
- Jeanet, R., Croguennec, T., Schuck, P., & Brulé, G. (2010). *Ciencia de los Alimentos*. Zaragoza: ACRIBIA S.A.
- Kume, A. (2012). *Crece Negocios*. Obtenido de <http://www.crecenegocios.com/el-analisis-costobeneficio/>
- La Fuente, J., Sáiz, M., Pérez, J., De Castro, A., Fuente, J., & Ortiz, J. (Septiembre de 2009). *Método de producción de fitoeno y/o fitoflueno, o mezclas de carotenoides con alto contenido en los mismos*. Obtenido de <http://www.google.com/patents/WO2009115629A1?cl=es>
- Narváez, L. (2015). *Obtención del pigmento natural del fruto de Evilán (Monnina spp) para su uso como colorante en Yogurt*. Tulcán.
- Pahua, M., Ortiz, A., Chamorro, G., & Garduño, L. (2007). *Estudio de las propiedades de la semilla de aguacate (Persea americana) variedad Hass, para el aprovechamiento integral del fruto*. Mexico, D.F.
- Parra, V. (2004). *Universidad Austral de Chile*. Obtenido de <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2004/fap259e/pdf/fap259eTH.3.pdf>

SAGARPA. (2011). *Monografía del Aguacate*. México.

Santacruz, L. (2011). *Análisis químico de antocianinas en frutos silvestres colombianos*. Bogotá.

SENPLADES. (2009). *Plan nacional para el Buen Vivir 2009-2013*. Quito.

Torres, F. (2015). *Evaluación de la estabilidad del pigmento natural obtenido a partir de mortiño (*Vaccinium myrtillus* L) como colorante para la industria de alimentos*. Guayaquil.

Zapata, L. (2014). *Obtención de extracto de antocianinas a partir de arándanos para ser utilizado como antioxidante y colorante en la industria alimentaria*. Valencia.

## 6. ANEXOS

**Anexo 1:** Semilla y cascara de aguacate, variedades Hass y Fuerte, desecho de la industria.



**Tomada por:** Revelo, M. (2015)

**Anexo 2:** Semilla de aguacate



**Tomada por:** Revelo, M. (2015)

**Anexo 3: Determinación del porcentaje de etanol**



**Tomada por:** Revelo, M. (2015)

**Anexo 4: Semilla molida de aguacate en solución de Etanol 90° y ácido cítrico**



**Tomada por:** Revelo, M. (2015)

**Anexo 5:** Filtrado de la solución que contiene a la semilla molida de aguacate



**Tomada por:** Revelo, M. (2015)

**Anexo 6:** Rotavaporación para eliminar la parte alcohólica



**Tomada por:** Revelo, M. (2015)

**Anexo 7:** Secado final del colorante obtenido del Rotavapor



**Tomada por:** Revelo, M. (2015)

**Anexo 8:** Colorante obtenido de la semilla de aguacate variedades Hass y Fuerte.



**Tomada por:** Revelo, M. (2015)

**Anexo 9: Muestras para análisis de estabilidad**



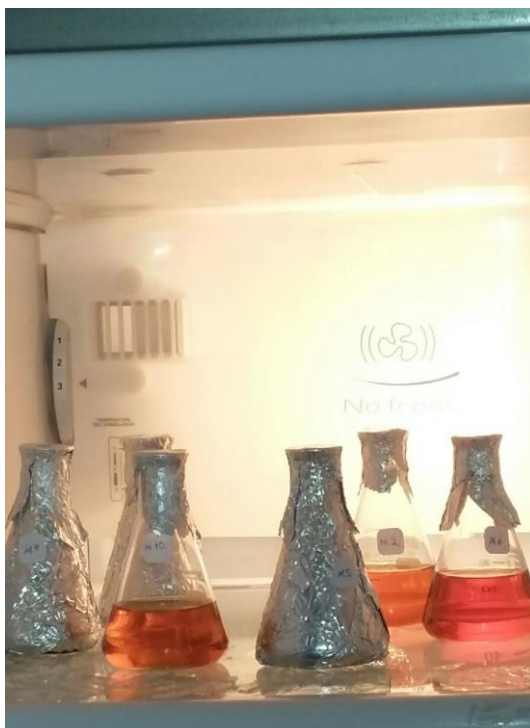
**Tomada por: Revelo, M. (2015)**

**Anexo 10: Muestras en oscuridad y al ambiente**



**Tomada por: Revelo, M. (2015)**

**Anexo 11: Muestras en refrigeración 4 C**



**Tomada por:** Revelo, M. (2015)

**Anexo 12: Muestras al ambiente y a la luz**



**Tomada por:** Revelo, M. (2015)

### **Anexo 13: Preparación de las cubetas**



**Tomada por:** Revelo, M. (2015)

### **Anexo 14: Toma de datos en el espectrofotómetro**



**Tomada por:** Revelo, M. (2015)

### Anexo 15: Medición de pH



Tomada por: Revelo, M. (2015)

### Anexo 16: Medición de sólidos solubles



Tomada por: Revelo, M. (2015)

## **Anexo 17: Medición de Acidez**



**Tomada por: Revelo, M. (2015)**

**Anexo 18:** Resultado del análisis físico-químico de la semilla molida de aguacate variedades Hass y Fuerte



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE**

UNIVERSIDAD ACREDITADA RESOLUCIÓN 002 – CONEA – 2010 – 129 – DC.

Resolución No. 001 – 073 – CEAACES – 2013 – 13

**FICAYA**

**Laboratorio de Análisis Físicos, Químicos y Microbiológicos**

Informe N°:	084 - 2015
Análisis solicitado por:	Sr. Fernando Revelo
Empresa:	Particular
Muestreado:	Propietario
Fecha de recepción:	30 de junio de 2015
Fecha de entrega informe:	17 de julio de 2015
Ciudad:	Tulcán
Provincia:	Carchi
Muestra:	Harina de pepa de aguacate
No. de Lote	No de comunica
No. Unidades Analizadas	1

Parámetro Analizado	Unidad	Resultado	Metodo de ensayo
Humedad	%	18,26	AOAC 925.10
Cenizas	%	2,14	AOAC 923.03
Proteína Total	%	3,2	AOAC 920.87
Extracto etéreo	%	2,20	AOAC 920.85
Fibra Bruta	%	4,76	AOAC 978.10
Carbohidratos	%	74,20	Cálculo
Calcio	mg/ 100 g	27	Espectrofotometría A.A.
Hierro	mg/ 100 g	0,85	

**Los resultados obtenidos pertenecen exclusivamente para las muestras analizadas**

Atentamente:

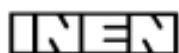
Bioq. José Luis Moreno  
Técnico de Laboratorio



**Visión Institucional**

La Universidad Técnica del Norte en el año 2020, será un referente en ciencia, tecnología e innovación en el país, con estándares de excelencia institucionales.

Av. 17 de Julio S-21 y José María  
Córdova Barrio El Olivo.  
Teléfono: (06)2997800  
Fax: Ext. 7711.  
Email: utn@utn.edu.ec  
www.utn.edu.ec  
Ibarra - Ecuador



## INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN

Quito - Ecuador

---

**NORMA TÉCNICA ECUATORIANA**

**NTE INEN 2395:2011**  
**Segunda revisión**

---

### **LECHES FERMENTADAS. REQUISITOS.**

**Primera Edición**

FERMENTE MILKS. REQUIREMENTS.

First Edition

---

DESCRIPTORES: Tecnología de los alimentos, leche y productos lácteos procesados, leches fermentadas, requisitos.  
AL 03.01-442  
CDU: 637.146  
CIU: 3112  
ICS: 67.100.01

<p><b>Norma Técnica Ecuatoriana Voluntaria</b></p>	<p><b>LECHES FERMENTADAS. REQUISITOS</b></p>	<p><b>NTE INEN 2395:2011 Segunda revisión 2011-07</b></p>
<p style="text-align: center;"><b>1. OBJETO</b></p> <p>1.1 Esta norma establece los requisitos que deben cumplir las leches fermentadas, destinadas al consumo directo.</p> <p style="text-align: center;"><b>2. ALCANCE</b></p> <p>2.1 Esta norma se aplica a las leches fermentadas naturales: yogur, kéfir, kumis, leche cultivada o acidificada; leches fermentadas con ingredientes y leches fermentadas tratadas térmicamente.</p> <p>2.2 No se aplican a las bebidas de leches fermentadas</p> <p style="text-align: center;"><b>3. DEFINICIONES</b></p> <p>3.1 Para efectos de esta norma se adoptan las siguientes definiciones:</p> <p>3.1.1 <i>Leche Fermentada natural.</i> Es el producto lácteo obtenido por medio de la fermentación de la leche, elaborado a partir de la leche por medio de la acción de microorganismos adecuados y teniendo como resultado la reducción del pH con o sin coagulación (precipitación isoeléctrica). Estos cultivos de microorganismos serán viables, activos y abundantes en el producto hasta la fecha de vencimiento. Si el producto es tratado térmicamente luego de la fermentación, no se aplica el requisito de microorganismos viables. Comprende todos los productos naturales, incluida la leche fermentada líquida, la leche acidificada y la leche cultivada y al yogur natural, sin aromas ni colorantes.</p> <p>3.1.2 <i>Producto natural.</i> Es el producto que no está aromatizado, no contiene frutas, hortalizas u otros ingredientes que no sean lácteos, ni está mezclado con otros ingredientes que no sean lácteos.</p> <p>3.1.3 <i>Yogur.</i> Es el producto coagulado obtenido por fermentación láctica de la leche o mezcla de esta con derivados lácteos, mediante la acción de bacterias lácticas <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> y <i>Streptococcus salivaris</i> subsp. <i>thermophilus</i>, pudiendo estar acompañadas de otras bacterias benéficas que por su actividad le confieren las características al producto terminado; estas bacterias deben ser viables y activas desde su inicio y durante toda la vida útil del producto. Puede ser adicionado o no de los ingredientes y aditivos indicados en esta norma.</p> <p>3.1.4 <i>Kéfir.</i> Es una leche fermentada con cultivos ácido lácticos elaborados con granos de kéfir, <i>Lactobacillus kéfir</i>, especies de géneros <i>Leuconostoc</i>, <i>Lactococcus</i> y <i>Acetobacter</i> con producción de ácido láctico, etanol y dióxido de carbono. Los granos de kéfir están constituidos por levaduras fermentadoras de lactosa (<i>Kluyveromyces marxianus</i>) y levaduras no fermentadoras de lactosa (<i>Saccharomyces omnisporus</i>, <i>Saccharomyces cerevisiae</i> y <i>Saccharomyces exiguus</i>), <i>Lactobacillus casei</i>, <i>Bifidobacterium sp</i> y <i>Streptococcus salivarius</i> subs. <i>thermophilus</i>, por cuales deben ser viables y activos durante la vida útil del producto.</p> <p>3.1.5 <i>Kumis.</i> Es una leche fermentada con <i>Lactococcus Lactis</i> subsp <i>cremoris</i> y <i>Lactococcus Lactis</i> subsp <i>lactis</i>, los cuales deben ser viables y activos en el producto hasta el final de su vida útil, con producción de alcohol y ácido láctico.</p> <p>3.1.6 <i>Leche cultivada, o acidificada.</i> Es una leche fermentada por la acción de <i>Lactobacillus acidophilus</i> (leche acidificada) o <i>Bifidobacterium sp.</i>, u otros cultivos lácticos inoocuos apropiados, los cuales deben ser viables y activos durante la vida útil del producto.</p> <p>3.1.7 <i>Leche fermentada tratada térmicamente.</i> Es el producto definido en el numeral 3.1.1 y 3.1.9, que ha sido sometido a tratamiento térmico, después de la fermentación. Los cultivos de microorganismos no serán viables ni activos en el producto final.</p> <p style="text-align: right;">(Continúa)</p> <p>DESCRIPTORES: Tecnología de los alimentos, leche y productos lácteos procesados, leches fermentadas, requisitos</p>		

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN – Casilla 17-01-39999 – Baqueza Moreno EB-29 y Almagro – Quito-Ecuador – Prohíbida la reproducción

**3.1.8 Leche fermentada con ingredientes.** Son productos lácteos compuestos, que contienen un máximo del 30 % (m/m) de ingredientes no lácteos (tales como edulcorantes, frutas y verduras así como jugos, purés, pastas, preparados y conservantes derivados de los mismos, cereales, miel, chocolate, frutos secos, café, especias y otros alimentos aromatizantes naturales e inocuos) y/o sabores. Los ingredientes no lácteos pueden ser añadidos antes o luego de la fermentación.

**3.1.9 Leche fermentada concentrada.** Es una leche fermentada cuya proteína ha sido aumentada antes o luego de la fermentación a un mínimo del 5,6%. Las leches fermentadas concentradas incluyen productos tradicionales tales como Stragisto (yogur colado), Labneh, Ymer e Ylette.

**3.1.10 Leche fermentada adicionada con microorganismos probióticos.** Es el producto definido en el numeral 3.1.1 al cual se le han adicionado bacteria vivas benéficas, que al ser ingeridas favorecen la microflora intestinal.

**3.1.11 Microorganismo probiótico.** Microorganismo vivo, que suministrado en la dieta e ingerido en cantidad suficiente ejerce un efecto benéfico sobre la salud, más allá de los efectos nutricionales.

#### 4. CLASIFICACIÓN

4.1 De acuerdo a sus características las leches fermentadas, se clasifican de la siguiente manera:

4.1.1 Según el contenido de grasa en:

- a) Entera.
- b) Semidescremada (parcialmente descremada).
- c) Descremada.

4.1.2 De acuerdo a los ingredientes en:

- a) Natural,
- b) Con ingredientes,

4.1.3 De acuerdo al proceso de elaboración en:

- a) Batido,
- b) Coagulado o aflanado,
- c) Tratado térmicamente
- d) Concentrado,
- e) Deslactosado.

4.1.4 De acuerdo al contenido de etanol, el Kéfir se clasifica en:

- a) suave
- b) fuerte

#### 5. DISPOSICIONES ESPECÍFICAS

5.1 La leche que se utilice para la elaboración de leches fermentadas debe cumplir con la NTE INEN 09, y posteriormente ser pasteurizada (ver NTE INEN 10) o esterilizada (ver NTE INEN 701) y debe manipularse en condiciones sanitarias según el Reglamento de Buenas Prácticas de Manufactura del Ministerio de Salud Pública.

(Continúa)

5.2 Se permite el uso de otras leches diferentes a las de vaca, siempre que en la etiqueta se declare de que mamífero procede.

5.3 Las leches fermentadas, deben presentar aspecto homogéneo, el sabor y olor deben ser característicos del producto fresco, sin materias extrañas, de color blanco cremoso u otro propio, resultante del color de la fruta o colorante natural añadido, de consistencia pastosa; textura lisa y uniforme.

5.4 A las leches fermentadas pueden agregarse, durante el proceso de fabricación, crema previamente pasteurizada, leche en polvo, leche evaporada, grasa láctea anhidra y proteínas lácteas.

5.5 Los residuos de medicamentos veterinarios y sus metabolitos no deben superar los límites establecidos por el Codex Alimentario CAC/LMR 2 en su última edición.

5.6 Los residuos de plaguicidas, pesticidas y sus metabolitos, no deben superar los límites establecidos por el Codex Alimentario CAC/LMR 1 en su última edición.

5.7 Se permite el uso de vitaminas, minerales y otros nutrientes específicos, de acuerdo con lo establecido en la NTE INEN 1334-2.

## 6. REQUISITOS

### 6.1 Requisitos específicos

6.1.1 A las leches fermentadas podrán añadirse: azúcares o edulcorantes permitidos, frutas frescas enteras o en trozos, pulpa de frutas, frutas secas y otros preparados a base de frutas. El contenido de fruta adicionada no debe ser inferior al 5 % (m/m) en el producto final.

6.1.2 Se permite la adición de otros ingredientes como: hortalizas, miel, chocolate, cacao, coco, café, cereales, especias y otros ingredientes naturales. Cuando se utiliza café el contenido máximo de cafeína será de 200 mg/kg, en el producto final. El peso total de las sustancias no lácteas agregadas a las leches fermentadas no será superior al 30% del peso total del producto.

6.1.3 La leche fermentada con frutas u hortalizas, al realizar el análisis histológico deben presentar las características propias de la fruta u hortaliza adicionada.

6.1.4 Las leches fermentadas, ensayadas de acuerdo con las normas ecuatorianas correspondientes deben cumplir con lo establecido en la tabla 1.

**TABLA 1. Especificaciones de las leches fermentadas**

REQUISITOS	ENTERA		SEMIDESCREMADA		DESCREMADA		METODO DE ENSAYO
	Min %	Max %	Min %	Max %	Min %	Max %	
Contenido de grasa	2,5	---	1,0	<2,5	---	<1,0	NTE INEN 12
Proteína, % m/m En yogur, kéfir, kumis, leche cultivada	2,7	--	2,7	--	2,7	--	NTE INEN 16
Alcohol etílico, % m/v En kéfir suave En kéfir fuerte Kumis	0,5 -- 0,5	1,5 3,0 ---	0,5 -- 0,5	1,5 3,0 ---	0,5 -- 0,5	1,5 3,0 ---	NTE INEN 379
Presencia de adulterantes <sup>1)</sup>	Negativo		Negativo		Negativo		NTE INEN 1500
Grasa Vegetal Suero de Leche	Negativo Negativo		Negativo Negativo		Negativo Negativo		NTE INEN 1500 NTE INEN 2401

\* Expresado como ácido láctico

1) Adulterantes: Harina y almidones (excepto los almidones modificados) soluciones salinas, suero de leche, grasas vegetales.

6.1.5 Las leches fermentadas deben cumplir con los requisitos del contenido mínimo del cultivo del microorganismo específico (*Lactobacillus delbruekii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus salivaris* subsp. *thermophilus*; *Lactobacillus acidophilus*, según sea el caso), y de bacterias prebióticas, hasta la fecha de vencimiento, de acuerdo con lo indicado en la tabla 2.

**TABLA 2. Cantidad de microorganismos específicos en leche fermentada sin tratamiento térmico posterior a la fermentación**

PRODUCTO	Yogur, kumis, kéfir, leche cultivada, leches fermentadas con ingredientes y leche fermentada concentrada Mínimo	kéfir y kumis Mínimo
Suma de microorganismos que comprenden el cultivo definido para cada producto	10 <sup>7</sup> UFC/g	
Bacterias probióticas	10 <sup>6</sup> UFC/g	
Levaduras		10 <sup>4</sup> UFC/g

#### 6.1.6 Requisitos microbiológicos

6.1.6.1 Al análisis microbiológico correspondiente las leches fermentadas deben dar ausencia de microorganismos patógenos, de sus metabolitos y toxinas.

6.1.6.2 Las leches fermentadas, ensayadas de acuerdo con las normas ecuatorianas correspondientes deben cumplir con los requisitos microbiológicos establecidos en la tabla 3.

**TABLA 3. Requisitos microbiológicos en leche fermentada sin tratamiento térmico posterior a la fermentación**

Requisito	n	m	M	c	Método de ensayo
Coliformes totales, UFC/g	5	10	100	2	NTE INEN 1529-7
Recuento de <i>E. coli</i> , UFC/g	5	<1	-	0	NTE INEN 1529-8
Recuento de mohos y levaduras, UFC/g	5	200	500	2	NTE INEN 1529-10

En donde:

n = Número de muestras a examinar.

m = Índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad.

M = Índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad.

c = Número de muestras permisibles con resultados entre m y M.

6.1.6.3 Cuando se analicen muestras individuales se tomaran como valores máximos los expresados en la columna m.

6.1.6.4 Las leches fermentadas tratadas térmicamente y envasadas asépticamente deben demostrar esterilidad comercial de acuerdo a NTE INEN 2335

6.1.7 *Aditivos*. Se permite el uso de los aditivos establecidos en la NTE INEN 2074 para estos productos

6.1.8 *Contaminantes*. El límite máximo de contaminantes no deben superar los límites establecidos por el Codex Stan 193-1995

#### 6.2 Requisitos complementarios

6.2.1 Las leches fermentadas, siempre que no se hayan sometido al proceso de esterilización, deben mantenerse en refrigeración durante toda su vida útil.

(Continúa)

6.2.2 Las unidades de comercialización de este producto debe cumplir con lo dispuesto en la Ley 2007-76 del Sistema Ecuatoriano de la Calidad.

## 7. INSPECCIÓN

7.1 **Muestreo.** El muestreo debe realizarse de acuerdo con lo establecido en la NTE INEN 04.

7.2 **Aceptación o rechazo.** Se acepta el lote si cumple con los requisitos establecidos en esta norma; caso contrario se rechaza.

## 8. ENVASADO Y EMBALADO

8.1 Las leches fermentadas deben expendirse en envases asépticos, y herméticamente cerrados, que aseguren la adecuada conservación y calidad del producto.

8.2 Las leches fermentadas deben acondicionarse en envases cuyo material, en contacto con el producto, sea resistente a su acción y no altere las características organolépticas del mismo.

8.3 El embalaje debe hacerse en condiciones que mantenga las características del producto y aseguren su inocuidad durante el almacenamiento, transporte y expendio.

## 9. ROTULADO

9.1 El Rotulado debe cumplir con los requisitos establecidos en el RTE INEN 022

*(Continúa)*

## APÉNDICE Z

### Z.1 DOCUMENTOS NORMATIVOS A CONSULTAR

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 4	<i>Leche y productos lácteos. Muestreo</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 9	<i>Leche cruda. Requisitos.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 10	<i>Leche pasteurizada. Requisitos.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 12	<i>Leche. Determinación del contenido de grasa.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 13	<i>Leche. Determinación de la acidez titulable.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 16	<i>Leche. Determinación de la proteína</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 19	<i>Leche. Ensayo de fosfatasa.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 379	<i>Conservas vegetales. Determinación de alcohol etílico.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 701	<i>Leche larga vida. Requisitos</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1334-2	<i>Rotulado de productos alimenticios para consumo humano. Parte 2. Rotulado nutricional. Requisitos.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1500	<i>Leche. Métodos de ensayo cualitativos para la determinación de la calidad.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-7	<i>Control microbiológico de los alimentos. Determinación de microorganismos coliformes por la técnica del recuento de colonias.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-8	<i>Control microbiológico de los alimentos. Determinación de coliformes fecales y escherichia coll.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-10	<i>Control microbiológico de los alimentos. Determinación del número de mohos y levaduras viables.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2074	<i>Aditivos alimentarios permitidos para consumo humano. Listas positivas. Requisitos.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2335	<i>Leche larga vida. Método para control de la esterilidad comercial</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2401	<i>Leche determinación de suero de quesería en leche fluida y en polvo. Método de cromatografía líquida de alta eficacia.</i>
Reglamento Técnico Ecuatoriano RTE INEN 022	<i>Rotulado de productos alimenticios procesados, envasados y empaquetados</i>
Ley 2007-76	<i>del Sistema Ecuatoriano de la Calidad. Publicado en el Registro Oficial No. 26 de 2007-02-22.</i>
Decreto Ejecutivo 3253	<i>Reglamento de Buenas Prácticas de Manufactura para Alimentos Procesados, Registro Oficial 696 de 4 de Noviembre del 2002</i>
Codex Alimentarius CAC/MRL 1	<i>Lista de límites máximos para residuos de plaguicidas en los alimentos.</i>
Codex Alimentarius CAC/MRL 2	<i>Lista de límites máximos para residuos de medicamentos veterinarios.</i>
Codex Stan 193-1995	<i>Norma General del Codex para los contaminantes y toxinas presentes en los alimentos.</i>

### Z.2 BASES DE ESTUDIO

Norma Andina. NA 078:2009	<i>Leches fermentadas. Requisitos. Comunidad Andina, Lima 2009</i>
Norma Técnica Colombiana NCT 805	<i>Productos Lácteos. Leches Fermentadas. Bogotá 2000.</i>
Programa Conjunto FAO – OMS	<i>Norma del Codex para leches fermentadas. Codex Stan 243-2003. Adoptado 2003. Revisión 2008, 2010</i>

(Continúa)

Ministerio de Agricultura y de Abastecimiento del Brasil. Resolución No. 5 de 13 de noviembre del 2000. *Especificaciones para las leches fermentadas.*

Secretaría de Salud. Norma Mexicana NOM 185-SSA1-2002 *Productos y servicios. Mantequilla, cremas, producto lácteo condensado azucarado, productos lácteos fermentados y acidificados, dulces a base de leche. Especificaciones sanitarias.* México 2002.