



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Química

"Purificación del Colorante Rojo de la Jamaica
(Hibiscus sabdariffa) y su Aplicación en Alimentos"

T E S I S

Que para obtener el título de:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P r e s e n t a :

Alicia Flor Torres Mejía

México, D. F.

1983



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

	Páginas
CAPITULO 1 INTRODUCCION	1
CAPITULO 2 OBJETIVOS	5
CAPITULO 3 ANTECEDENTES	6
3.1 IMPORTANCIA DEL COLOR	
3.2 COLORANTES DE ALIMENTOS	
3.3 JAMAICA	
CAPITULO 4 MATERIALES Y METODOS	19
4.1 MATERIALES	
4.2 EXTRACCION DE LOS PIGMENTOS	
4.3 PURIFICACION DE LOS PIGMENTOS ROJOS	
4.4 DETERMINACION DE LA ESTABILIDAD DE LOS PIGMENTOS ROJOS.	
4.5 EVALUACION MICROBIOLOGICA	
4.6 APLICACION DE LOS PIGMENTOS A UN SISTEMA ALIMENTARIO	
4.7 EVALUACION SENSORIAL	

CAPITULO 5	RESULTADOS Y DISCUSION	32
5.1	EXTRACCION DE LOS PIGMENTOS	
5.2	PURIFICACION DE LOS PIGMENTOS ROJOS	
5.3	DETERMINACION DE LA ESTABILIDAD DE LOS PIGMENTOS ROJOS	
5.4	EVALUACION MICROBIOLOGICA	
5.5	EVALUACION SENSORIAL	
CAPITULO 6	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	67
CAPITULO 7	BIBLIOGRAFIA	70
APENDICE	A	77
APENDICE	B	79
APENDICE	C	80

1.- INTRODUCCION

La industria alimentaria ha tenido un gran desarrollo en los últimos años, debido a la alta demanda de alimentos procesados, que tienen que ser repartidos a sitios cada vez más apartados de los centros de producción y a un mayor número de consumidores, que ven en su uso un gran ahorro de tiempo y disponibilidad de una amplia variedad de alimentos durante todas las épocas del año.

Esto ha promovido la búsqueda de mejores técnicas en la producción de alimentos, abarcando aspectos como:

- Mejorar la cantidad y calidad de las cosechas.
- Mejorar la calidad y rendimiento del ganado.
- Conservar y aumentar la calidad nutritiva de los alimentos.
- Mejorar los métodos de conservación y facilitar el transporte de los productos.
- Elaborar nuevos productos a partir de materias primas no aprovechadas.
- Desarrollo de alimentos de fácil preparación y buen aspecto general.

En la elaboración de alimentos procesados, deben tenerse en cuenta factores de gran importancia como son:

- Mantener o elevar el valor nutritivo de los alimentos.
- Aumentar su vida de anaquel.

..

- Cuidar que su presencia sea agradable, ya que si el alimento tiene alto valor nutritivo, pero pobre apariencia, no será consumido, y por lo tanto el primer punto no cumple su objetivo.

De aquí surge la necesidad de recurrir a los aditivos alimentarios, los cuales son: "Sustancias distintas a las materias alimenticias básicas, agregadas a los alimentos en pequeñas cantidades durante su producción, procesamiento, almacenaje o empaque, con el fin de mejorar o mantener la calidad del alimento" (23) .

El procesador de alimentos cuenta con los siguientes tipos de aditivos:

A.- ADITIVOS FUNCIONALES. Aquellos que desempeñan una función técnica en el alimento, tal como dar color, aroma, sabor, mejorar su consistencia, etc.

B.- ADITIVOS DE ENRIQUECIMIENTO. Usados para elevar el valor nutritivo de un alimento.

C.- ADITIVOS DIETÉTICOS. Sustancias que sustituyen a ingredientes con valor energético elevado.

El uso de aditivos alimentarios en México es controlado por medio del Reglamento de Aditivos Alimentario de la Secretaría de Salubridad y Asistencia (SSA) (45) en cuyo artículo 6o. establece: "Solo se permite el uso de aditivos en alimentos y bebidas, cuando se considere estrictamente necesario para una buena elaboración, presentación y/o conservación de los mismos, y nunca para enmascarar defectos de calidad.

..

Los aditivos y cantidades empleadas quedarán sujetas a las disposiciones señaladas por la Secretaría de Salubridad y Asistencia o por los reglamentos respectivos para cada tipo de alimento".

El industrial debe estar al tanto de la lista de compuestos generalmente reconocidos como seguros para su uso en alimentos (LISTA GRASS), así como las concentraciones máximas permitidas, ya que el hecho de que un aditivo sea permitido no descarta la posibilidad que en un futuro sea prohibido, esto como consecuencia a las modificaciones realizadas a las pruebas y a otros criterios de seguridad (26).

En el caso específico de los colorantes, su uso se hace necesario ya que los colores naturales de los alimentos tiende a modificarse e incluso desaparecer durante el procesamiento, observándose que la demanda de materias colorantes es paralela al desarrollo de la industria procesadora.

El uso de colorantes artificiales ofrece grandes ventajas entre las que se encuentra el presentar mayor poder de tinción, uniformidad, disponibilidad, estabilidad, variedad de matices, menos problemas de contaminación, etc., pero a todas estas relativas ventajas se oponen los aspectos toxicológicos, ya que durante los últimos años ha ido disminuyendo la lista de colorantes artificiales permitidos en alimentos por demostrarse, mediante pruebas de laboratorio, que producen efectos cancerígenos, teratológicos o algún otro tipo de reacción patológica (15,57), este panorama ha inducido a la búsqueda de

..

de fuentes naturales de pigmentos, para sustituir a los arti
ficiales, entre los que encontramos: hollejo de uva, arándano,
betabel, tuna cardona, flor de jamaica, etc., que ofrecen pig-
mentos con tonalidades rojas.

* * *

2.- OBJETIVO

La flor de jamaica se considera como una posible fuente de sustitución de los colorantes artificiales, cuyo consumo involucra un factor riesgo en mayor o menor grado, de aquí el gran interés que se ha tomado en los últimos años hacia el estudio de los pigmentos de origen natural, sin embargo su uso presenta varios inconvenientes que han limitado en gran medida su uso:

- Pueden ser biotransformados por microorganismos, alterando así sus características de color y estabilidad
- Pueden estar contaminados con materiales biológicos que favorezcan el desarrollo de microorganismos, disminuyendo así la vida de anaquel de los productos.
- Pueden impartir olores y sabores.
- Tienen baja estabilidad.
- Tienen bajo poder de tinción.

El objetivo de éste trabajo fué el evaluar las posibilidades de aplicación de los pigmentos rojos de la jamaica en alimentos, para lo cual se contemplaron dos aspectos muy importantes:

- Extracción de los pigmentos.
- Purificación de los pigmentos rojos, con lo que se esperaba disminuir o eliminar los inconvenientes asociados con su uso.

* * *

3.- ANTECEDENTES

3.1 IMPORTANCIA DEL COLOR EN LOS ALIMENTOS.

El color forma parte integral de un alimento, ya que se asocia con características como el grado de madurez, las calidades microbiológica y organoléptica, formándose un primer juicio basado principalmente en ésta cualidad del alimento.

De aquí la importancia para el industrial de reconstituir los colores perdidos durante el procesamiento de los alimentos y de mantener un patrón de calidad estandar, recurriendo entre otros tipos de aditivos al uso de materias colorantes, con las que obtendrá una mejor apariencia en sus productos, redundando esto directamente en un mayor consumo.

Para demostrar la influencia del color en los alimentos se han realizado estudios como el llevado a cabo por Hall (1958) en el que se determinó la reacción del público ante un producto coloreado de manera impropia a su sabor (25).

Otro estudio realizado por Kostyla y Clydesdale (1979) cuantificó la relación entre el color y otros factores sensoriales como dulzura y acidez, adicionando a una bebida pequeñas cantidades de Rojo No. 40, se mostró un aumento aparente en la dulzura del 5% al 10% .(20)

De los estudios anteriores se pudo concluir que el color:

- Causa una mayor impresión que el sabor.
- Influye en la habilidad para identificar un sabor, su calidad y fuerza.
- Influye en la forma de percibir otros factores sensoriales.

3.2. COLORANTES DE ALIMENTOS.

"Colorante se considera aquella sustancia que se agrega a los comestibles y bebidas con el fin de proporcionar e intensificar su color". (45)

Los tipos de colorantes para la industria alimentaria se dividen en dos grandes grupos:

COLORANTES ORGANICO NATURALES. Provenientes de fuentes vegetales o animales. Dentro de este grupo los más importantes para la industria de alimentos son: carotenoides, clorofila, - antocianinas, flavonoides, taninos, betalaínas, hemoglobina y mioglobina. (5)

La tabla 1 muestra algunas fuentes potenciales de colorantes con tonalidades naranja a rojo.

TABLA 1. POSIBLES FUENTES DE COLORANTES ORGANICO NATURALES DE USO ALIMENTARIO.			
FUENTE	COLORANTE	FUENTE	COLORANTE
Zempazúchil	Carotenoides	Achiote	Carotenoides
Zanahoria	Carotenoides	Uva	Antocianinas
Jamaica	Antocianinas	Fresas	Flavonoides
Betabel	Betalaínas	Jiotilla	Betalaínas
Tuna cardona	Betalaínas	Higos	Antocianinas
Ciruelas	Antocianinas	Cerezas	Antocianinas

COLORANTES SINTETICOS. Son sustancias sintetizadas a partir de productos derivados del alquitrán de hulla o compuestos con estructura química similar, los cuales no aportan ningún valor nutritivo a los alimentos, únicamente desempeñan un papel estético.

3.3. JAMAICA.

El nombre científico de ésta planta es Hibiscus - sabdariffa , recibe diversos nombre de uso común tales como: jamaica, sorrel, roselle o rama.

Es un producto muy apreciado por sus propiedades entre - las que se encuentra:

- Antimicrobiano (27, 44, 50).
- Antihelmintico en teniasis (27, 44, 50).
- Disminución de la presión sanguínea (27).
- Antiespasmódico al intestino y músculos del útero - (44, 50).
- Estimulante de la peristalsis (44).
- Activación y neutralización de la secreción hepática (14).
- Diurético (14).
- Obtención de fibras textiles (5, 7, 12, 35).
- Aceite de sus semillas con buenas características (2, 51).
- Para preparar bebidas, conservas, ensaladas o impartir sabor a salsas (9, 24, 42, 46).
- Posible fuente de colorante rojo de uso alimentario (9, 17, 18, 58).

En la tabla 2 se muestra la composición de los cálices frescos de la jamaica.

TABLA 2. COMPOSICION DE LOS CALICES FRESCOS DE LA JAMAICA (43).

	A	B
AGUA	88.91%	78.22%
SOLIDOS	11.09	11.09
CENIZAS	0.89	0.89
RESIDUOS INSOLUBLES	6.67	6.67
ACIDOS (AC. MALICO)	2.77	2.77
AZUCARES REDUCTORES	0.33	0.33
OTROS QUE SE PIERDEN (COLO- RANTES, SUSTANCIAS AROMATI- CAS, ETC)	0.4	

A.- Según la Dirección General de Extensión Agrícola, Chapingo

B.- Según Bureau of Chemistry, del Depto. de Agricultura de -
Washington E.U.A.

PRODUCCION.

En la República Mexicana se distingue como principal zona productora al estado de Guerrero, con una superficie cosechada de 6 371 hectáreas y en menor proporción el estado de Oaxaca.

La jamaica es un cultivo temporal, sembrado en mayo o junio y cosechado en diciembre y enero. Casi la totalidad de la flor de jamaica cultivada en Guerrero se siembra junto con el maíz, teniendo un rendimiento medio por hectárea de 107.8 Kg/Ha.

El 70 % de los productores son ejidatarios no asociados para comercializar la flor.

El 25 % trabajan tierras comunales y venden a la merced con ayuda de CONASUPO-COPLAMAR.

El 5 % restante son pequeños propietarios.

En la tabla 3 se presentan algunos datos de producción.

TABLA 3. PRODUCCION DE LA FLOR DE JAMAICA (43).			
AÑO	AREA MAIZ/JAMAICA (Ha)	PRODUCCION Kg FLOR SECA	RENDIMIENTO Kg/Ha
1980	30.5	3,295	108.0
1981	27.2	2,929	107.0
1982	40.2	--	--

El comportamiento de la disponibilidad de la flor de jamaica depende básicamente de la oferta y demanda, observándose que dos años aumenta su producción y un año baja considerablemente, repitiéndose éste ciclo, comportamiento debido básicamente al acaparamiento de la flor y a la baja demanda ejercida por los intermediarios.

La exportación es muy limitada ya que es comprada a un costo mucho menor que el del medio rural.

Los mercados que pueden satisfacer los productos de la jamaica son:

a) Mercado de industrializadores, representando una demanda aproximada de 340 toneladas por año. (Productores de jarabes, extractos, esencias, polvos).

b) Mercado a ciudades cercanas; Acapulco, Chilpancingo, - Cuernavaca, representando una demanda de 400 toneladas por año.

c) Ciudad de México, que constituye el principal mercado 12 000 toneladas por año.

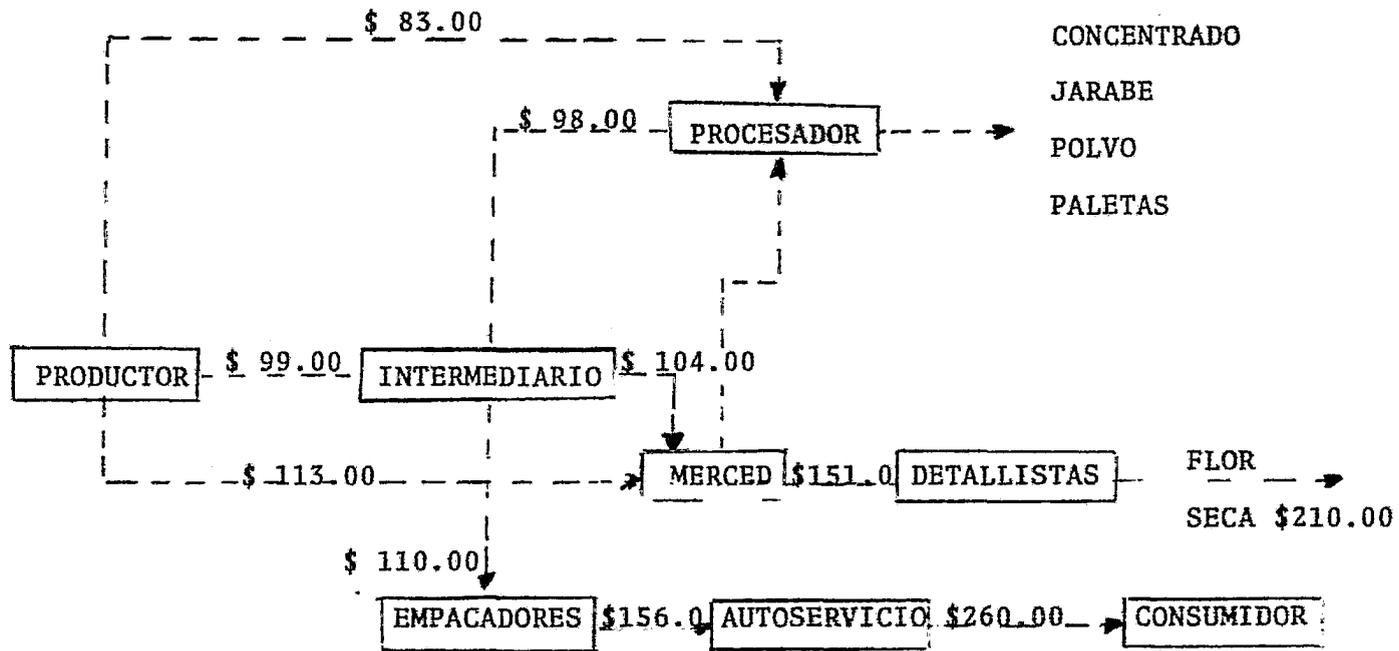
En la tabla 4 se muestran las formas de comercialización actuales.

TABLA 4. FORMAS DE COMERCIALIZACION DE LA FLOR DE JAMAICA (43)		% CONSUMO
FLOR SECA	{ GRANEL	78.8
	{ BOLSA	12.5
POLVO		7.5
JARABE		1,2

Se puede observar que el mayor consumo de la jamaica es - como flor seca, reportándose un consumo de 3.9 Kg/hogar en el año de 1982.

El consumo como productos elaborados es bajo, debido a - que a su paso a través de los distintos canales de comercialización se incrementa en gran medida su costo además de los inconvenientes que implica su uso, la figura 1 muestra algunos - datos obtenidos durante el año 1981.

FIGURA 1. AUMENTO EN EL COSTO DE JAMAICA A TRAVES DE LOS DISTINTOS -
 CANALES DE COMERCIALIZACION (43).



PIGMENTOS DE LA FLOR DE JAMAICA.

Según investigaciones llevadas a cabo por Du y Francis (1973), las antocianinas son las responsables del color propio de la jamaica (16).

Las antocianinas son pigmentos hidrosolubles, con características químicas de glucósidos. Están formados por un aglucón también llamado antocianidina, derivado del 2 fenil benzopirilum. A continuación se muestran las estructuras de las seis antocianidinas más comunes en alimentos.

TABLA 5. SUSTITUCION EN LA ESTRUCTURA DEL CATION FLAVILIO PARA ORIGINAR LOS PRINCIPALES ANTOCIANOS .(6)

	Sustituyentes en el C número			FORMULA
	3	4	5	
Pelargonidina	H	OH	H	
Peonidina	OMe	OH	H	
Petunidina	OMe	OH	OH	
Malvidina	OMe	OH	OMe	
Cianidina	OH	OH	H	
Delfinidina	OH	OH	OH	

El aglucón está unido a través de un enlace β -glucosídico a una porción carbohidratada, que puede ser un monosacárido o un disacárido unido en las posiciones 3,5, 6 7 del núcleo benzopirilum, este conjunto constituye las antocianinas.

En la jamaica se han encontrado las siguientes antocianinas:

Cianidin - 3 - sambubiósido

Delfinidin - 3 - sambubiósido

Cianidin - 3 - glucósido

Delfinidin - 3 - glucósido

Se ha encontrado la presencia de sólo cinco azúcares: glucosa, ramnosa, xilosa, arabinosa.

En la jamaica los azúcares separados por una hidrólisis ácida o con peróxido fueron identificados realizando una cromatografía en papel, la tabla 6 muestra los resultados obtenidos (16).

TABLA 6. PRODUCTOS DE UNA HIDROLISIS REALIZADA A LAS ANTOCIANINAS DE JAMAICA (16).

ANTOCIANINA	AGLUCON	AZUCARES
Cianidin-3-sambubiósido	Cianidin	Glucosa-Xilosa
Delfinidin-3-sambubiósido	Delfinidin	Glucosa-Xilosa
Cianidin-3-glucósido	Cianidin	Glucosa
Delfinidin-3-glucósido	Delfinidin	Glucosa

EXTRACCION.

El método convencional para la extracción de antocianinas es con alcohol acidificado (16, 22, 23, 32, 34, 37, 40).

Metivier y colaboradores (1980), probaron la extracción de antocianinas de la uva, con solventes acuosos y etanólicos acidificados con HCl, cítrico, tartárico, fórmico, acético y - propiónico encontrando la mayor extracción con ácido cítrico en metanol y en menor proporción la realizada con HCl en meta nol (37).

..

Philip (1974) sugiere la extracción de las antocianinas del desperdicio de uva con ácido tartárico/metanol seguida de una precipitación del exceso de ácido tartárico como cremor-tártaro (40).

El uso de enzimas pécticas puede utilizarse para mejorar la extracción de los pigmentos, ya que al actuar sobre las sustancias pécticas que forman parte del cemento intracelular y de las paredes celulares liberan las antocianinas del contenido celular, facilitando y mejorando su extracción.

En la actualidad hay un gran interés hacia el uso de enzimas en la industria de alimentos la que ve en estas varias ventajas.

ESTABILIDAD.

Las antocianinas presentan estabilidad química baja, debido a la deficiencia de electrones del núcleo flavilium.

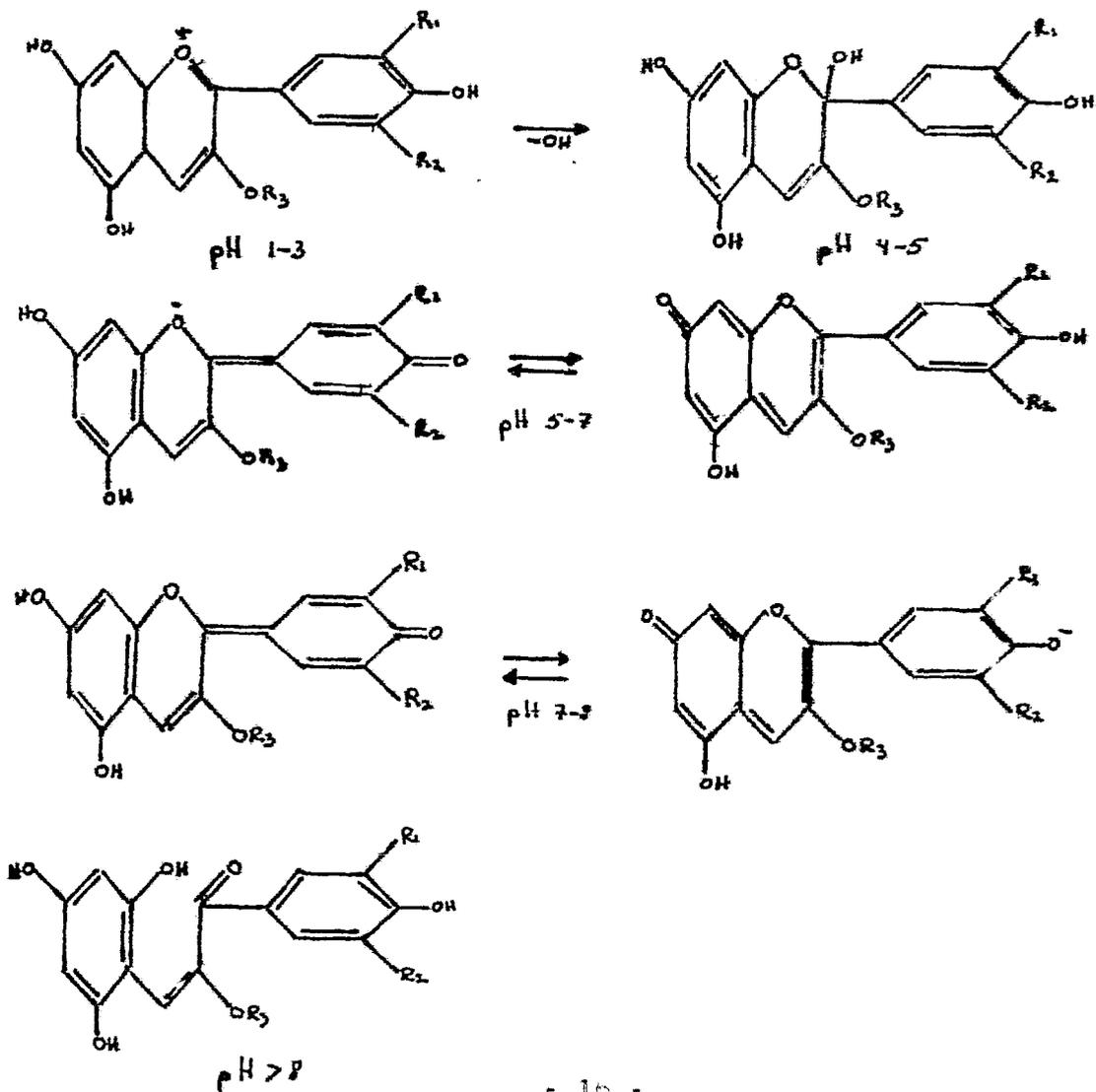
Entre los factores que afectan la estabilidad de las antocianinas se encuentran:

Estructura química.- El número y orientación de los grupos hidroxilo y metoxilo, junto con el azúcar unida determinan la estabilidad y tono de las antocianinas, correspondiendo a un mayor número de grupos hidroxilos una menor estabilidad con un aumento en el tono azul, mientras que un aumento en los grupos metoxilo aumenta la estabilidad y tono rojo.

pH.- Son muy susceptibles a los cambios de pH dado su estructura iónica, la tabla 7 muestra los cambios de estructura del pigmento antociano en función del pH y coloraciones respectivas.

TABLA 7. CAMBIO DE ESTRUCTURA DEL PIGMENTO ANTOCIANO EN -
 FUNCION DEL pH (19).

INTERVALO DE pH	FORMA QUIMICA	COLORACION
1 - 3	Sal de flavilium	Rojo
4 - 5	Base carbinol	Incoloro
5 - 7	Base anhidra quinoidal	Púrpura
7 - 8	Base anhidra ionizada	Azul intenso
Mayor de 8	Chalcona	Café amarillento



SULFITOS O SO_2 .- La adición de éstos compuestos a las antocianinas provoca rápida decoloración produciéndose pigmentos amarillos, debido a una reacción de adición del sulfito en posiciones 2 6 4 produciéndose finalmente compuestos incoloros, se logra la eliminación del sulfito y la regeneración de la antocianina mediante ebullición y acidificación, de aquí que se use este tipo de reacción para la conservación de frutas a granel (6).

ACIDO ASCORBICO.- Se cree que los peróxidos formados por degradación del ácido ascórbico provocan la destrucción de las antocianinas, ésta reacción se ve acelerada por compuestos de cobre y hierro (19).

IONES SODIO, POTASIO, CALCIO, MAGNESIO.- Al formar las antocianinas las sales respectivas de éstos iones, cambian su tonalidad.

IONES FIERRO Y ALUMINIO.- La presencia de estos iones provoca cambios en las coloraciones de las antocianinas.

DEGRADACION ENZIMATICA.- Existen diversos sistemas enzimáticos capaces de decolorar los pigmentos antocianos: Fenolasa, glucosidasa y peroxidasa.

PURIFICACION.

Entre los métodos de purificación estudiados tenemos(21, 32) tenemos:

- Extracción con solventes,
- Precipitación con acetatos de mercurio, zinc y plomo.
- Electroforésis.
- Ultrafiltración.
- Tamizado molecular.
- Cromatografía en capa fina.
- Cromatografía de intercambio iónico.

Fuleki y Francis (1968) evaluaron algunos de éstos métodos para la purificación de los pigmentos de la uva, entre ellos: Precipitación con acetato de plomo, cromatografía de intercambio iónico, columnas de poliamida, resultando la cromatografía de intercambio iónico la mejor (21).

Lin y Hilton (1980) determinaron que entre los mejores métodos para remover casi en su totalidad los contaminantes de los pigmentos de la uva estaban: Ultrafiltración combinada con intercambio iónico, (resina catiónica fuerte), Ultrafiltración o diálisis.

* * *

4.- MATERIALES Y METODOS

4.1. MATERIALES.

MATERIA PRIMA.- Para la obtención de muestras no se escogió ningún lugar en especial, ya que toda la jamaica disponible en tiendas y supermercados pertenece a la misma variedad comestible. En algunos casos se obtuvo a granel y en otros en paquete.

- Balanza analítica Sartorius. Cap. Máxima 160 g.
- Balanza granataria Ohaus.
- Baño de temperatura constante New brunswick. Mod. R 76
- Columna de vidrio (27 x 1.7 cm).
- Espectrofotómetro UV-Visible. Perkin Elmer Mod 202.
- Percolador.
- Potenciómetro Beckman. Mod.3 500 digital.
- Refractómetro Binko No. 9025, 0 - 32 %.
- Resina Dowex 50 W - X - 8. Catiónica fuerte.
- Rotavapor Buchi.
- Termobalanza Ohaus.
- Todos los reactivos utilizados fueron grado reactivo.
- Se utilizó agua destilada y desionizada.

4.2 EXTRACCION DE LOS PIGMENTOS.

Las flores de jamaica se limpiaron eliminando pedúnculos, hojas y flores en malas condiciones, además de basura en general que arrastran durante su cosecha y almacenamiento.

En este estudio la extracción de los pigmentos contenidos en las flores de jamaica se llevó a cabo por:

A. PERCOLACION.

B. INMERSION.

En los que se varió:

- Disolvente (Agua, etanol, metanol)
- Acido (Cítrico, tartárico, HCl)
- Temperatura
- Tiempo de extracción.

METODO POR PERCOLACION.

Se colocaron 50 g de flores completas de jamaica en el percolador, realizándose dos extracciones sucesivas con la mitad del volumen del líquido de extracción correspondiente, bajo las condiciones mostradas en la tabla 8 . Se determinó la concentración de antocianinas a las fracciones finales.

TABLA 8. CONDICIONES DE EXTRACCION DEL METODO POR PERCOLACION.

DISOLVENTE DE EXTRACCION	TEMPERATURA	TIEMPO TOTAL DE EXTRACCION.
Ac. cítrico 1%-MeOH 10%	80° C	70 min
Ac. tartárico 1%-EtOH 10%	80° C	90 min

METODO POR INMERSION.

Se pesaron 5 g de flores de jamaica trituradas y se colocaron en bolsas de gasa para evitar la salida de hojas que pudieran interferir en la toma de alícuotas del líquido extrayente, al que se determinaron la concentración de antocianinas.

Las bolsas fueron sumergidas en 100 ml del líquido extrayente respectivo, manteniéndolas en un baño de temperatura controlada (Tabla 9).

5 g de flores trituradas se introdujeron en 100 ml de - pectinasa al 1% (Preparación comercial) a un pH=3, y se mantuvieron a una temperatura de 40° C. Cada 10 minutos se tomaron alícuotas, las que tenían que sumergirse en un baño de hielo - para detener la acción del enzima y posteriormente se determinaba la concentración de antocianinas.

TABLA 9. CONDICIONES DE EXTRACCION DEL METODO POR INMERSION.

DISOLVENTE DE EXTRACCION	TEMPERATURA.
Ac. cítrico 1% en agua	20°, 40°, 60°, 96° C
EtOH 95%-Ac. cítrico 1%	20°, 40°, 60° C
Pectinasa 1% en agua	40° C

*En todos los casos se ajustó el pH de las soluciones con HCl ó NaOH.

Se hicieron determinaciones por duplicado.

CONCENTRACION DE LOS EXTRACTOS.

Las soluciones con los pigmentos extraídos fueron concentradas al vacío, manteniendo una temperatura externa máxima de $30 \pm 2^\circ \text{C}$ y protegido de la luz, con objeto de disminuir algunos de los factores que causan inestabilidad a los pigmentos.

Una vez concentradas las soluciones se dejaron reposar a 4°C durante aproximadamente 24 horas, con objeto de favorecer la aglomeración y precipitación de sustancias de alto peso molecular como sustancias pécticas y mucilaginosas que pudieran interferir en pasos posteriores, el precipitado fué separado del medio por una filtración en gasa.

Los extractos obtenidos hasta este punto corresponden a los "Extractos crudos".

4.3 PURIFICACION DE LOS PIGMENTOS ROJOS.

La purificación de los pigmentos rojos de la jamaica se llevó a cabo por cromatografía de intercambio iónico, usándose una resina Dowex 50 W-X-8, que es una base de poliestireno con un grupo catiónico fuerte ($-\text{SO}_3^-$).

La resina fué acondicionada según el AOAC (38) en un proceso diseñado para remover contaminantes tales como materiales residuales de la fabricación o productos de degradación de la resina, además de hidratarla proporcionando así acceso adecuado a los sitios ionizados de las moléculas que se adsorberán (41), una vez acondicionada se equilibró con la disolución amortiguadora respectiva al método de elución.

Se aplicaron 5 ml del extracto crudo (3.3 mg de antocianinas/5 ml) sobre el lecho de resina de 25 cm de largo.

Las condiciones iniciales de elución fueron:

Amortiguador de acetatos 0.01 M a pH = 4.5, seguida del mismo amortiguador con 0.5 M de NaCl y una tercera elución con 1.0 M de NaCl según Lin y Hilton (32).

Se hicieron modificaciones a las condiciones anteriores eluyendo únicamente dos fracciones, la primera de ellas eluida únicamente con el amortiguador, con objeto de sacar de la columna compuestos que no interaccionaron o lo hicieron levemente, los pigmentos purificados se eluyeron en la segunda fracción con las disoluciones mostradas en la tabla 10.

Se tomaron lecturas del porcentaje de sólidos en el refractómetro al extracto crudo y a los pigmentos purificados.

Se corrieron muestras por duplicado.

TABLA 10. PURIFICACION. VARIACIONES EN LAS CONDICIONES DE ELUCION.

AMORTIGUADOR ^a	NaCl	ALCOHOL
Citratos 0.01 M	0.00 M	50 % Etanol
Citratos 0.01 M	0.25 M	50 % Etanol
Citratos 0.01 M	0.50 M	50 % Etanol
Citratos 0.01 M	0.75 M	50 % Etanol
Citratos 0.01 M	1.00 M	50 % Etanol
Citratos 0.01 M	0.50 M	10 % Etanol
Citratos 0.01 M	0.50 M	25 % Etanol
Tartrato 0.01 M	0.50 M	50 % Etanol
Tartrato doble de Na y K	0.50 M	50 % Etanol
0.50 M		

a.- Disolución amortiguadora utilizada para la elución de la primera fracción

4.4. DETERMINACION DE LA ESTABILIDAD DE LOS PIGMENTOS ROJOS.

Con el fin de conocer la influencia del pH, temperatura, luz y aire en la estabilidad de las antocianinas de la jamaica se realizaron las siguientes pruebas al extracto crudo y al purificado.

EFEECTO DEL pH.

Alícuotas del extracto crudo se diluyeron con disoluciones amortiguadoras de fosfatos, citratos, succinatos y acetatos a pH 's 2, 3, 4 y 5 respectivamente, se les determinó sus espectros de absorción en el espectrofotómetro UV-Visible Perkin - Elmer.

EFEECTO DE LA TEMPERATURA.

Para determinar el efecto de la temperatura se utilizaron los extractos de jamaica con los pigmentos crudos y purificados a pH= 2 y 3 donde muestran el tono rojo y mayor estabilidad al pH.

Las muestras de los extractos crudos y purificados diluidas con las disoluciones amortiguadoras correspondientes a pH s 2 y 3 se colocaron en tubos de ensayo protegidos de la luz y saturados con N₂. Se introdujeron en baños de temperatura controlada (40, 20°, 70° y 96° ± 2° C).

Cuando las disoluciones con los pigmentos antocianos fueron calentadas, el color disminuyó gradualmente, lo que se determinó tomando lecturas de absorbancia a intervalos de tiempos particulares para cada temperatura, dependiendo esto de su velocidad de degradación.

El cambio en el color fué estudiado determinando el remanente de antocianinas (%R) con la siguiente fórmula:

$$\%R = \frac{\text{mg de antocianinas al tiempo X}}{\text{mg de antocianinas al tiempo 0}} \times 100$$

Se graficó el logaritmo de la concentración de antocianina remanente (%R) contra el tiempo de tratamiento de cada temperatura de experimentación, generándose una línea recta, lo que indica que la degradación de los pigmentos sigue una cinética de primer orden, lo que está de acuerdo a lo reportado en la literatura para gran cantidad de nutrientes y pigmentos (39, 47, 53, 55, 56).

Las pendientes de las rectas corresponden a las constantes de velocidad (k) conociendo éstas y el orden de reacción se calcularon los tiempos de vida media de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$t_{1/2} = \frac{\text{Ln } 2}{k}$$

Se calculó el valor D o tiempo en minutos requerido para destruir al 90% de microorganismos o algún nutriente microbiano presente en un alimento a una temperatura constante. De la gráfica de % R contra el tiempo, el valor D corresponde al inverso negativo de la pendiente. A mayor valor D mayor estabilidad térmica.

Conociendo los valores D o tiempo de reducción decimal, se

se calculó Z o temperatura en ° F necesaria para lograr una -
reducción decimal en D, la cual varía en forma directamente -
proporcional con la estabilidad de un nutriente o pigmento.

Se determina graficando el logaritmo decimal de los va-
lores D contra temperatura en °F, donde el inverso de las pen-
dientes de las rectas trazadas corresponden a los valores Z.

EFECTO DE LA LUZ Y EL AIRE.

Las muestras con el amortiguador respectivo se mantuvie-
ron en una caja de material aislante de las siguientes dimen-
siones : Largo 35.7 cm, ancho 26 cm, altura 14.5 cm en cuyo -
interior se colocó una lámpara que mantenía una temperatura -
de 60° 2° C en el interior de los tubos.

Se hicieron cuatro combinaciones para cada uno de los ex-
tractos a pH's 2 y 3.

Oscuridad - N₂

Luz - N₂

Oscuridad - O₂

Luz - O₂

Se realizaron las pruebas por duplicado y se manejaron los
datos como en el caso anterior.

CUANTIFICACION DE LOS PIGMENTOS.

Para la evaluación de los procedimientos de extracción, -
purificación y determinación de la estabilidad de los pigmentos
fué necesario la cuantificación de antocianinas, para lo cual -
se utilizó un método colorimétrico tomando lecturas de absorban-
cias de las muestras a una longitud de onda de 520 nm.

El contenido total de antocianinas fué expresado en base a Delfinidin-3-glucósido, utilizando un coeficiente de extinción molar de 2.9×10^4 y un peso molecular de 518 g/mol (16).

4.5. EVALUACION MICROBIOLOGICA.

El extracto crudo y los pigmentos purificados fueron analizados microbiológicamente realizando un recuento en placa de:

- Cuenta total de bacterias mesofílicas en Agar dextrosa.
- Hongos y levaduras en Agar de dextrosa y papa (Bioxon).

Se inocularon los medios de cultivo con las disoluciones 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-4} . Se incubaron a $37 \pm 2^\circ \text{C}$, contando el número de colonias a las 24 y 48 horas.

4.6. APLICACION DE LOS PIGMENTOS A UN SISTEMA ALIMENTARIO.

Para investigar las características y posibilidades de aplicación del colorante rojo de la jamaica, se usaron tanto el extracto crudo como el purificado para la elaboración de una gelatina sabor fresa.

Se usó la fórmula base siguiente en la cual únicamente se varió el tipo de colorante: extracto crudo, pigmentos purificados, mezcla de colorantes artificiales rojo y amarillo.

El saborizante y el colorante fueron agregados hasta igualar las características organolépticas de una gelatina comercial.

FORMULA BASE:

- | | |
|-------------|--------|
| - Sacarosa | 85.5 % |
| - Grenetina | 11.7 % |

- Ac. cítrico 1.7 %
- Citrato de sodio 0.2 %
- NaCl 0.1 %
- Saborizante artificial
- Colorante rojo.

4.7. EVALUACION SENSORIAL.

En el desarrollo de nuevos productos, así como en las reformulaciones es necesario la evaluación sensorial de éstos, para lo cual debe establecerse claramente los propósitos que desempeñará el panel, en éste caso se deseaba conocer la preferencia de los consumidores así como la detección de una diferencia, evaluando color y sabor de las gelatinas preparadas con los distintos colorantes.

Se recurrió a un grupo de panelistas no entrenados a los que se les aplicó una prueba triangular y una hedónica (Figuras 2 y 3).

Los resultados se trataron estadísticamente por un análisis de varianza (30).

FIGURA 2. PRUEBA TRIANGULAR (3).

FECHA _____ NOMBRE _____
PRODUCTO _____

PRUEBA TRIANGULAR

Instrucciones: Aquí hay tres muestras. Dos de ellas son iguales
Separe la que sea diferente.

I. COLOR

MUESTRA	MUESTRAS IGUALES	COMENTARIOS
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____

Indique el grado de diferencia entre las muestras iguales y la
diferente.

Leve _____ Moderada _____ Mucha _____ Extremada _____

II. SABOR

MUESTRA	MUESTRAS IGUALES	COMENTARIOS
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____

Indique el grado de diferencia entre las muestras iguales y la
diferente

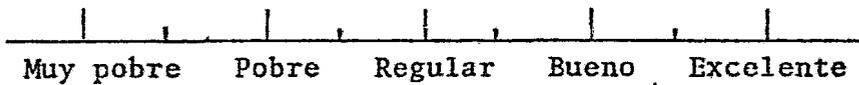
Leve _____ Moderada _____ Mucha _____ Extremada _____

FIGURA 3. PRUEBA HEDONICA (3).

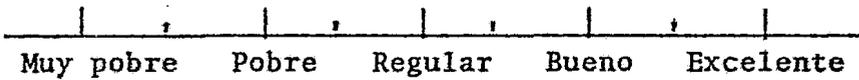
ESCALA HEDONICA

Instrucciones: Sólo para color, colocar una marca en la escala para indicar la calificación.

MUESTRAS IGUALES



MUESTRA DIFERENTE



¿Detectó alguna característica diferente que no sea el color entre las muestras?

Si _____ No _____

Si marcó "Si", indique el tipo de diferencia.

5.- RESULTADOS Y DISCUSION

5.1. EXTRACCION DE LOS PIGMENTOS.

-Método por percolación.

Este método presentó varios inconvenientes que llevaron a un bajo rendimiento, entre ellos:

- Temperatura de extracción elevada que puede alterar la estructura química de los pigmentos dado su naturaleza termolábil.

- Tiempo de exposición largo del líquido de extracción con los pigmentos en el fondo del percolador en donde se registra la temperatura más alta.

- Poco tiempo de contacto de las flores con el disolvente.

- Irrigación deficiente del líquido de extracción sobre la muestra, dejando gran cantidad de pigmentos sin extraer.

- Proceso continuo que no permite la realización de un perfil de extracción en el que se determine tiempo de máxima extracción.

- Método por inmersión.

En este método se tomaron en cuenta varios puntos con lo que se esperaba mejorar los porcentajes de recuperación respecto al método por percolación, entre éstos:

- Trituración de las flores secas de jamaica para aumentar el área de contacto con el disolvente.

- Mayor tiempo de contacto flores - líquido extrayente.

- Variaciones en las temperaturas de extracción.

- Realización de perfiles de elución que permiten determi

nar temperatura y tiempo de mayor extracción.

Con objeto de mejorar la extracción de los pigmentos se usó pectinasa, la cual actuar sobre las pectinas que forman parte tanto del cemento intracelular como de la pared celular, liberará las antocianinas del contenido celular, facilitando y mejorando su extracción.

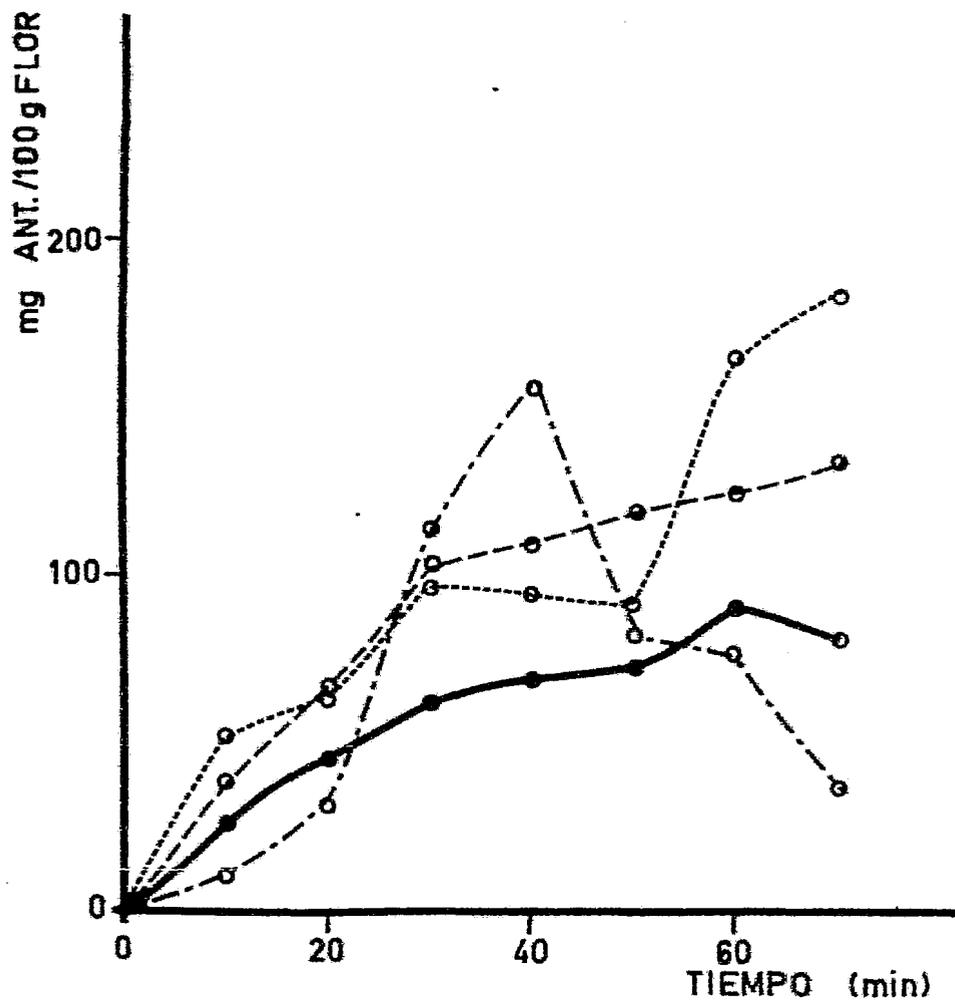
a. DISOLVENTE ACUOSO.- La extracción con ácido cítrico al 1% logra un grado de extracción aceptable y mínima degradación de los pigmentos por efecto térmico, aunque el tiempo de proceso es largo, lo que representa un inconveniente.

En la figura 4 también se observa que el menor grado de extracción corresponde al realizado a 96° C debido a la destrucción térmica de los pigmentos, los extractos obtenidos en estas condiciones no es conveniente realizar la purificación dado la gran cantidad de pigmentos degradados. y en caso de utilizarse para colorear algún producto disminuiría considerablemente su vida de anaquel, además del color rojo parduzco, sabor y color indeseable que proporcionaría al alimento en caso de no estar purificados.

Este tipo de procedimiento de extracción es seguido generalmente a nivel hogar ya que el extracto obtenido es consumido de inmediato.

A 60° C se obtiene un buen grado de extracción en un tiempo corto (40 min) ,seguido de un rápido descenso en la concentración de antocianinas por efecto térmico, por lo que de seleccionarse debe tenerse gran control del tiempo del proceso.

FIGURA 4. DISOLVENTE ACUOSO. EFECTO DE LA TEMPERATURA EN LA EXTRACCION DE LOS PIGMENTOS



- ACIDO CITRICO 1 % :

20° C -----

40° C (dotted)

60° C - . - . - . (dash-dot)

96° C _____ (solid)

* Se hicieron determinaciones por duplicado.

El mayor grado de extracción obtenido con ácido cítrico al 1% fué el realizado a 40° C.

De la figura 5 se observa que la extracción de antocianinas con pectinasa al 1% a 40° C, logró un constante aumento en la cantidad de pigmentos extraídos desde el inicio de proceso, - mejorando apreciablemente el grado de extracción.

Sería recomendable realizar estudios más profundos acerca del tipo de pectinas contenidas en las flores de jamaica, así como condiciones y concentraciones óptimas de operación.

El uso de enzimas involucra muchas ventajas:

- Su alta especificidad, lo que asegura que no actuarán en perjuicio de otros constituyentes.
- Trabajan en condiciones moderadas de temperatura y pH.
- Funcionan a bajas concentraciones, por lo que su alto costo está contrarrestado por ésto, así como el que puedan utilizarse inmovilizadas para reutilizarse.
- Son fáciles de inactivar una vez realizada su función.

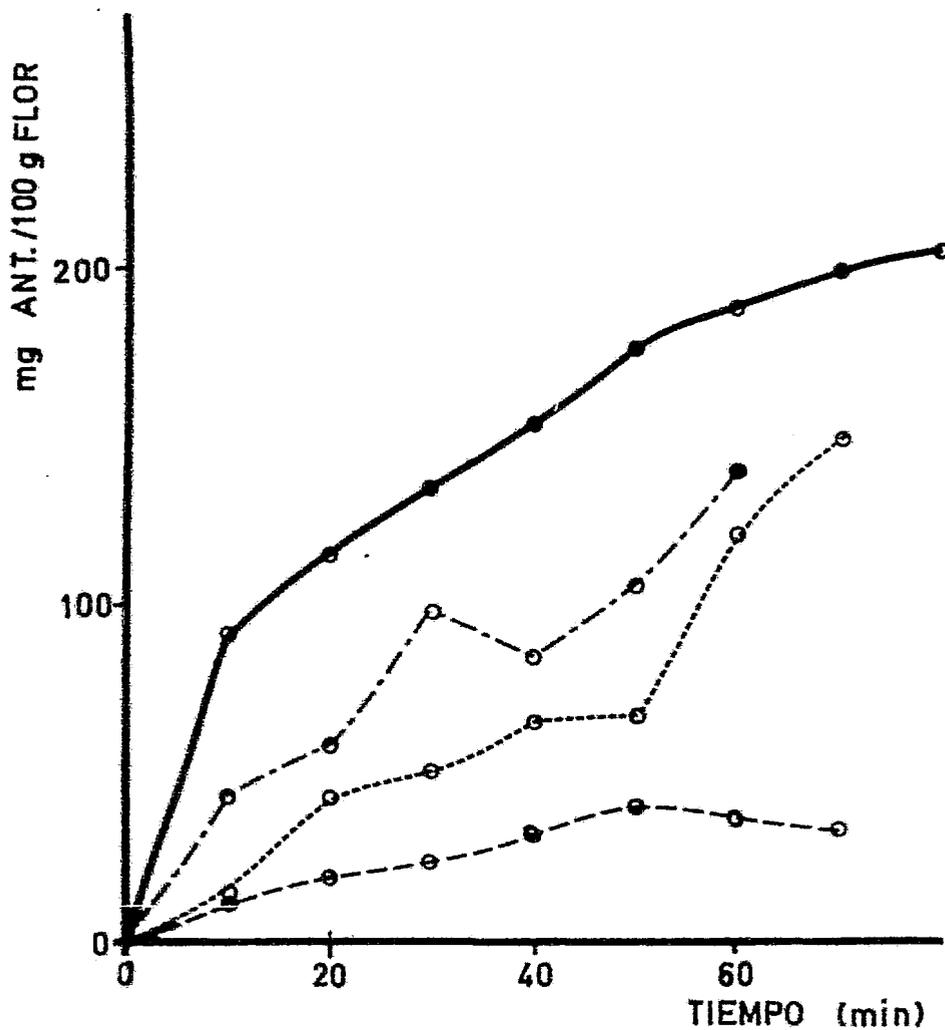
Para calcular los porcentajes de recuperación, se tomó - como 100% los 204.6 mg de antocianinas/100 g de flor extraídos con la pectinasa.

En ninguno de los casos se realizó una extracción exhaustiva de los pigmentos.

b. DISOLVENTE ETANOLICO. En la figura 5 se observa que con el uso del disolvente etanólico se obtienen porcentajes de recuperación menores que con el disolvente acuoso.

El mejor grado de extracción fué el realizado con etanol al 95% con ácido cítrico 1% a 40° C.

FIGURA 5. DISOLVENTE ETANOLICO. EFECTO DE LA TEMPERATURA EN LA EXTRACCION DE LOS PIGMENTOS.



- ETANOL 95 % - AC. CITRICO 1 % :

20° C -----

40° C - - - - -

60° C -

- PECTINASA 1%

40° C —————

* Se hicieron determinaciones por duplicado.

Se utilizó únicamente etanol como disolvente alcohólico ya que aunque se reporta que el metanol es 20% más efectivo - para la extracción de antocianinas de uva (37), posee efectos tóxicos no deseables para los fines en alimentos, además que - se observó en el caso de la purificación una mayor elución de los pigmentos rojos de la jamaica de la columna intercambiadora de iones con etanol en un 26% respecto al metanol, pudiendo te ner estos datos una relación con la extracción de los pigmentos de la materia prima.

5.2. PURIFICACION DE LOS PIGMENTOS.

Como se puede observar en la figura 6, en las condiciones iniciales de elución, los pigmentos fueron eluidos al primer aumento de la fuerza iónica, no teniendo ningun efecto un aumento posterior.

El rendimiento obtenido fué muy bajo, debido probablemente a una fuerte adsorción de los pigmentos en la resina, la cual al final del procedimiento tenía un color rojo intenso, el uso de solventes orgánicos tales como metanol o etanol eluyen algunos de éstos pigmentos adsorbidos.

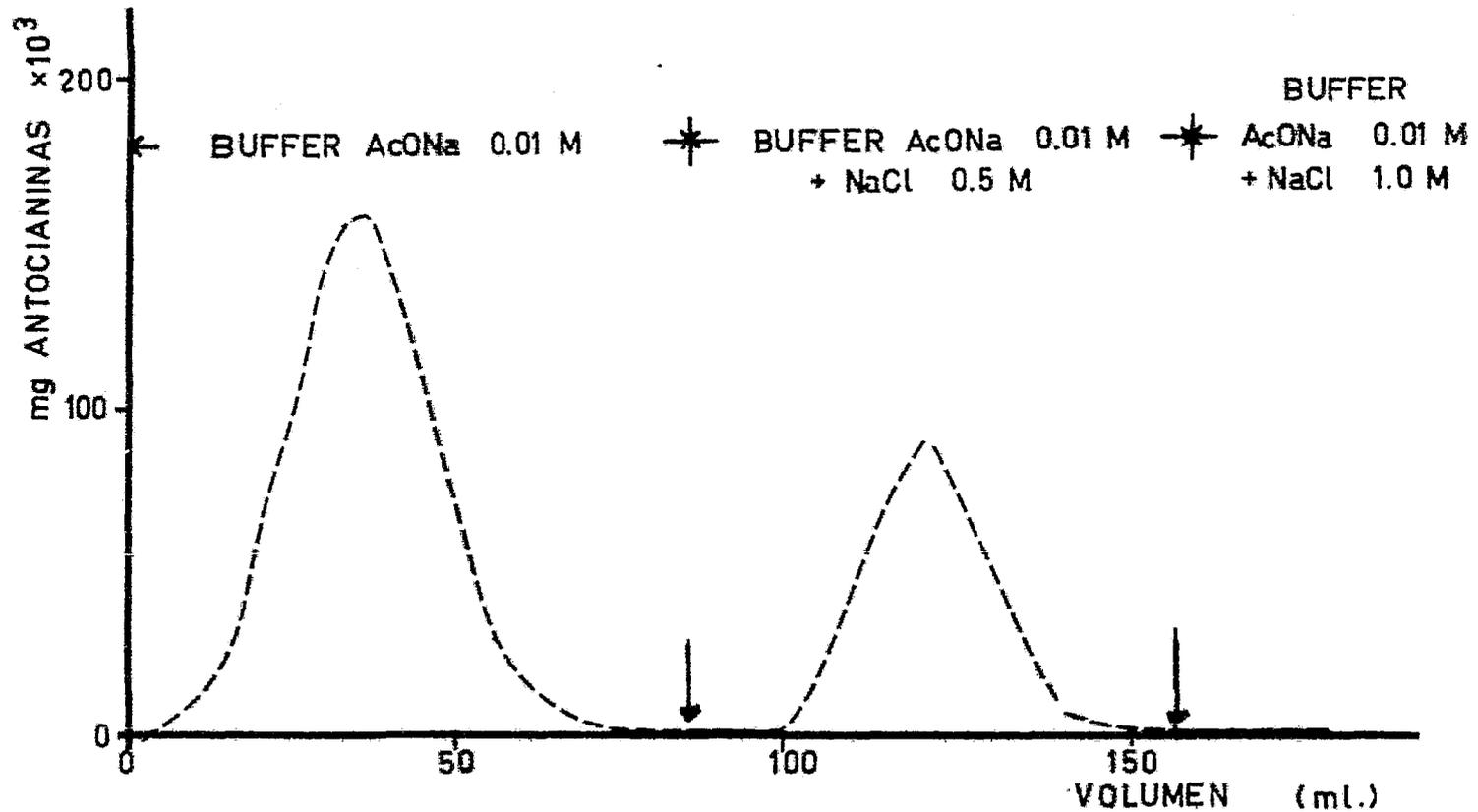
VARIACION DE LA FUERZA IONICA.

En la figura 7 se observa que la elución de los pigmentos varía directamente proporcional a la concentración de NaCl, debido a que los iones Na^+ favorecen la desorción de las antocianinas, ya que compiten por los sitios de unión en la resina haciendo que éstas fluyan hacia abajo en la columna.

Se seleccionó la concentración intermedia, por no ser muy grande la diferencia de elución a concentraciones mayores de NaCl, para evitar tener gran cantidad de iones Na al fin del proceso, los cuales al momento de ajustar el pH del extracto forman sales muy solubles en caso de usarse disoluciones amortiguadoras de citratos o acetatos.

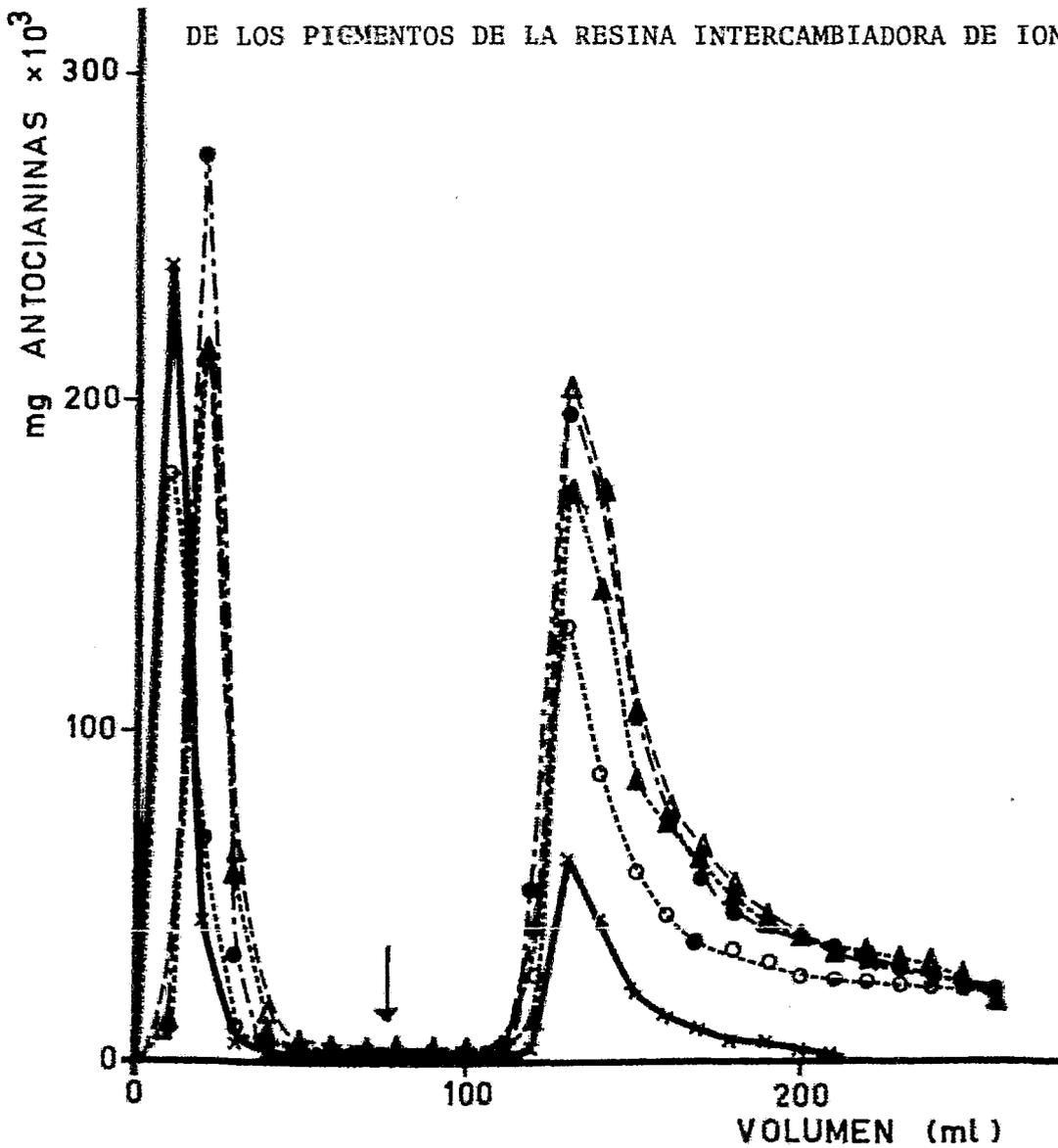
A concentraciones menores de 0.5 M de NaCl el grado de diferencia en la elución es mayor, aunque se observa que aun sin la presencia de la sal los pigmentos eluyen.

FIGURA 6. PERFIL DE ELUCION DE LOS PIGMENTOS ROJOS DE LA JAMAICA
POR CROMATOGRAFIA DE INTERCAMBIO IONICO.



* Cambio de eluyente. ↓

FIGURA 7. VARIACION EN LA CONCENTRACION DE NaCl EN LA ELUCION DE LOS PIGMENTOS DE LA RESINA INTERCAMBIADORA DE IONES.



- AMORTIGUADOR ACETATOS 0.01 M - 50 % ETANOL - NaCl; PARA ELUIR

LA FRACCION 2:

—x—x—x—x—	NaCl 0.0 M	—●—●—●—●—	NaCl 0.25 M
—○—○—○—○—	NaCl 0.25 M	—△—△—△—△—	NaCl 1.00 M
—▲—▲—▲—▲—	NaCl 0.50 M		

* CAMBIO DE ELUYENTE. ↓

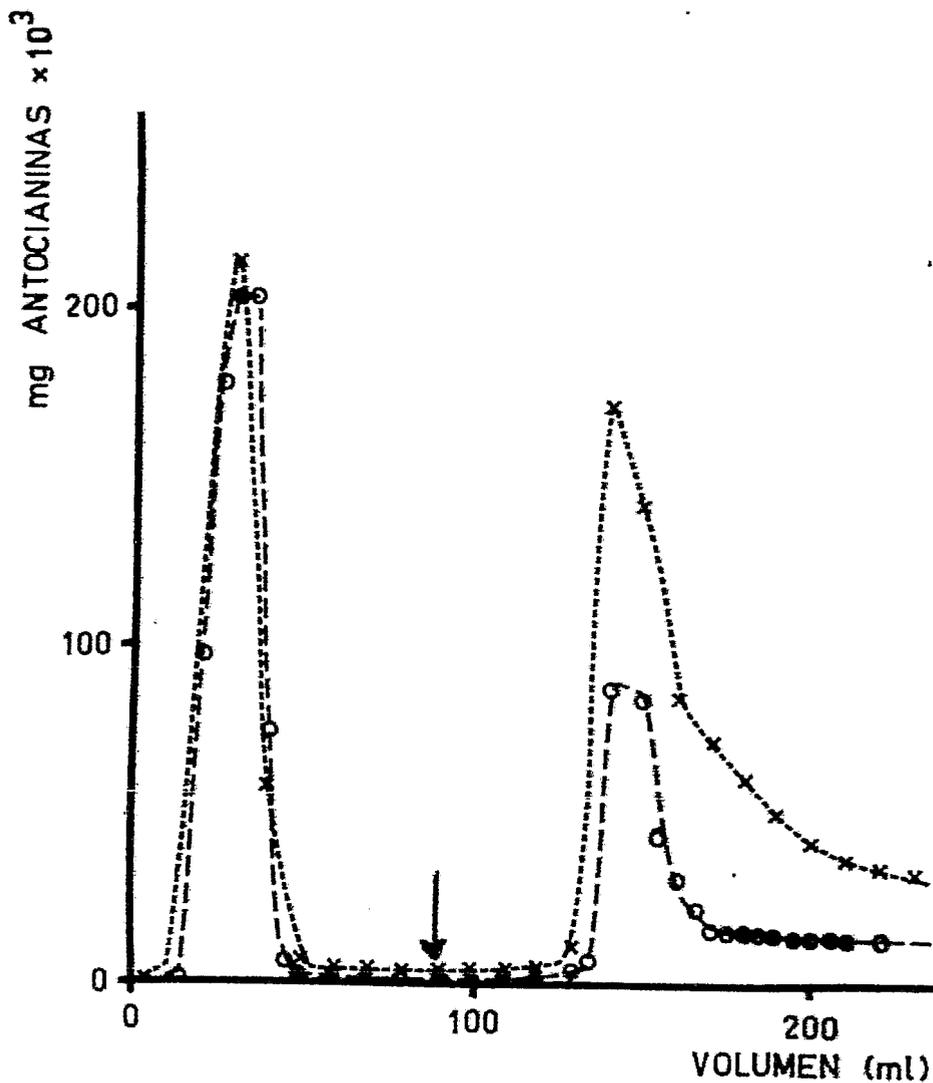
VARIACION DEL TIPO DE ALCOHOL Y EFECTO DE SU CONCENTRACION.

Con el etanol se logra una mejor elución de los pigmentos en aproximadamente un 26% más respecto al metanol (Figura 8), ésta comparación es de importancia relativa ya que aunque fuese más eficiente no se usaría por sus efectos tóxicos.

Los pigmentos forman polímeros que son adsorbidos en el poliestireno teniendo el alcohol un papel importante en el mecanismo de desorción. La figura 9 muestra la incapacidad de las antocianinas para eluir a concentraciones bajas de alcohol, mostrando un marcado aumento en la elución al incrementarse la concentración de alcohol.

Se seleccionó la concentración de 50% de etanol, por el grado de elución logrado y por que su uso no presenta problemas ni al aplicarse a la columna, ni para su eliminación, a concentraciones mayores la columna se fractura debido a la deshidratación de la resina. El uso de alcohol sin acidificar causa un cambio en el color de la resina de rojo a violeta, indicando posible degradación de los pigmentos vía quinoidal.

FIGURA 8. VARIACION DEL TIPO DE ALCOHOL EN LA ELUCION DE LOS PIGMENTOS DE LA RESINA INTERCAMBIADORA DE IONES.

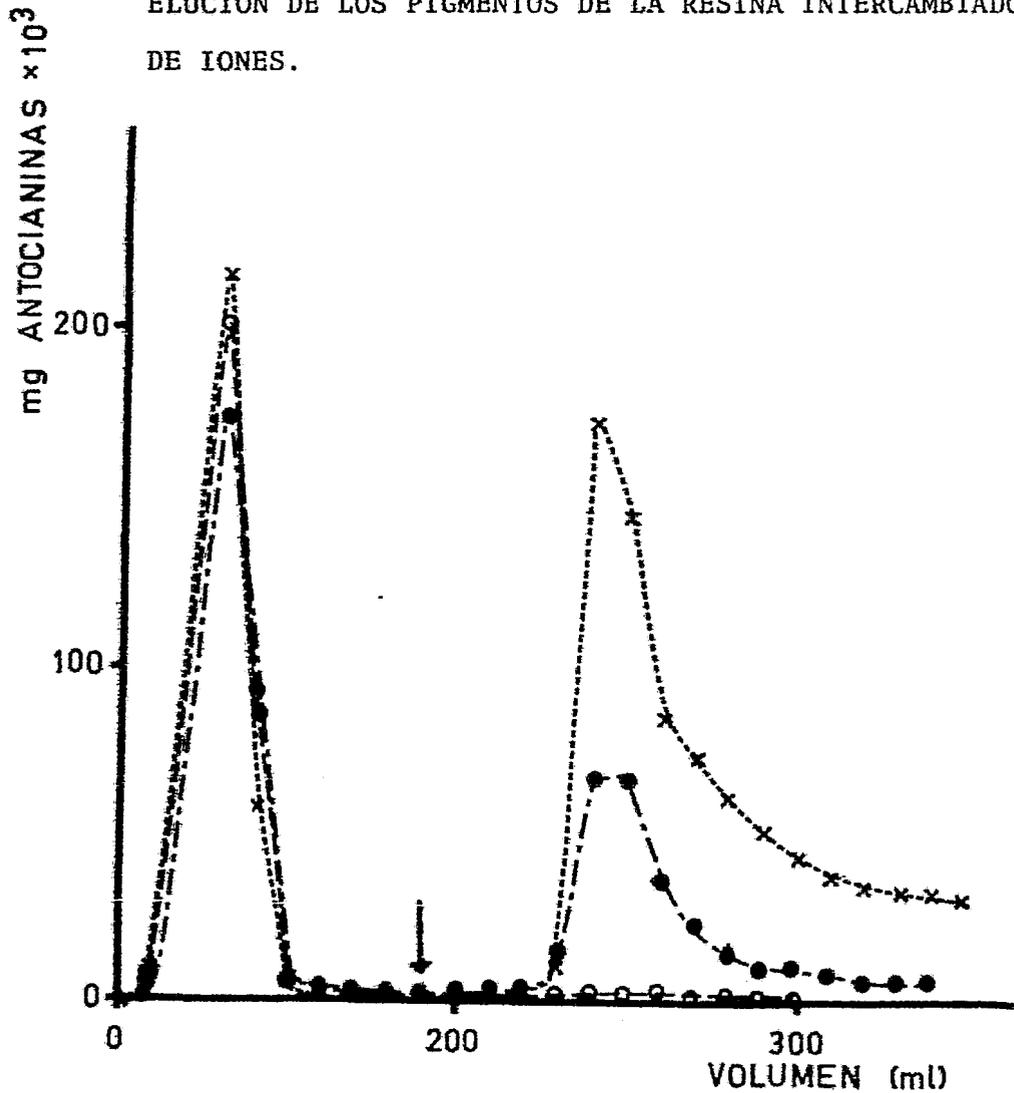


AMORTIGUADOR ACETATO 0.01 M - NaCl 0.5 M - 50 % METANOL -----

AMORTIGUADOR CITRATO 0.01 M - NaCl 0.5 M - 50 % ETANOL

* CAMBIO DE ELUYENTE. ↓

FIGURA 9. VARIACIONES EN LA CONCENTRACION DE ALCOHOL PARA LA ELUCION DE LOS PIGMENTOS DE LA RESINA INTERCAMBIADORA DE IONES.



- AMORTIGUADOR ACETATOS 0.01 M - NaCl 05 M - ETANOL; PARA ELUIR FRACCION 2.

10 % ETANOL ---
 25 % ETANOL - - -
 50 % ETANOL . . .

* CAMBIO DE ELUYENTE ↓

VARIACION DEL TIPO DE DISOLUCION AMORTIGUADORA.

Debido a que los pigmentos purificados utilizando amortiguadores de acetatos y citratos tenían un sabor salado totalmente inaceptable, se probó la elución de los pigmentos de la resina utilizando amortiguadores de tartrato y de tartrato doble de Na y K, la figura 10 muestra los resultados obtenidos:

El amortiguador de tartratos logró la mejor elución de los pigmentos de la columna de intercambio iónico, su uso es muy recomendable, ya que al final del proceso puede eliminarse el exceso durante las neutralizaciones necesarias al final del proceso, utilizando KOH al 40 % para formar bitartrato de potasio o cremor tártaro, que es un compuesto insoluble en agua (40) fácil de separar del medio por filtración o centrifugación.

El amortiguador de tartrato doble de Na y K eluyó muy baja cantidad de pigmentos debido a su baja solubilidad en la disolución alcohólica (36), precipitándose al momento de aplicarse a la columna, interfiriendo así en la adsorción y desorción de los pigmentos.

Con el amortiguador de citratos y acetatos se logró el mismo grado de elución, siendo éste menor que el logrado con el amortiguador de tartratos con el que no se presenta el problema de salinidad en el extracto.

Por otro lado, el NaCl y los ácidos cítrico y tartárico forman parte de los ingredientes de algunas formulaciones de gelatinas, por lo que si los pigmentos purificados con este método fueran usados con este fin, se aprovecharía la presen-

cia de éstos compuestos siendo necesaria una reformulación.

Durante los distintos procedimientos se presentó una banda café rojiza, debido aparentemente a compuestos insolubles - en agua o alcohol los que pueden ser productos de degradación polimerizados.

Los sólidos totales contenidos en el extracto crudo (12.8%) disminuyen durante la purificación hasta 2 %, por lo tanto el intercambio iónico logró purificar las antocianinas tanto de los azúcares como de los productos de degradación.

Todas las variaciones en la forma de elución se realizaron por duplicado.

Las condiciones finales de purificación fueron:

METODO: Cromatografía de Intercambio Iónico.

RESINA: DOWEX 50 W-X-8 - Catiónica fuerte ($-\text{SO}_3^-$).

TEMPERATURA: 20° 2° C.

AMORTIGUADOR: Tartratos 0.01 M - pH 3,5

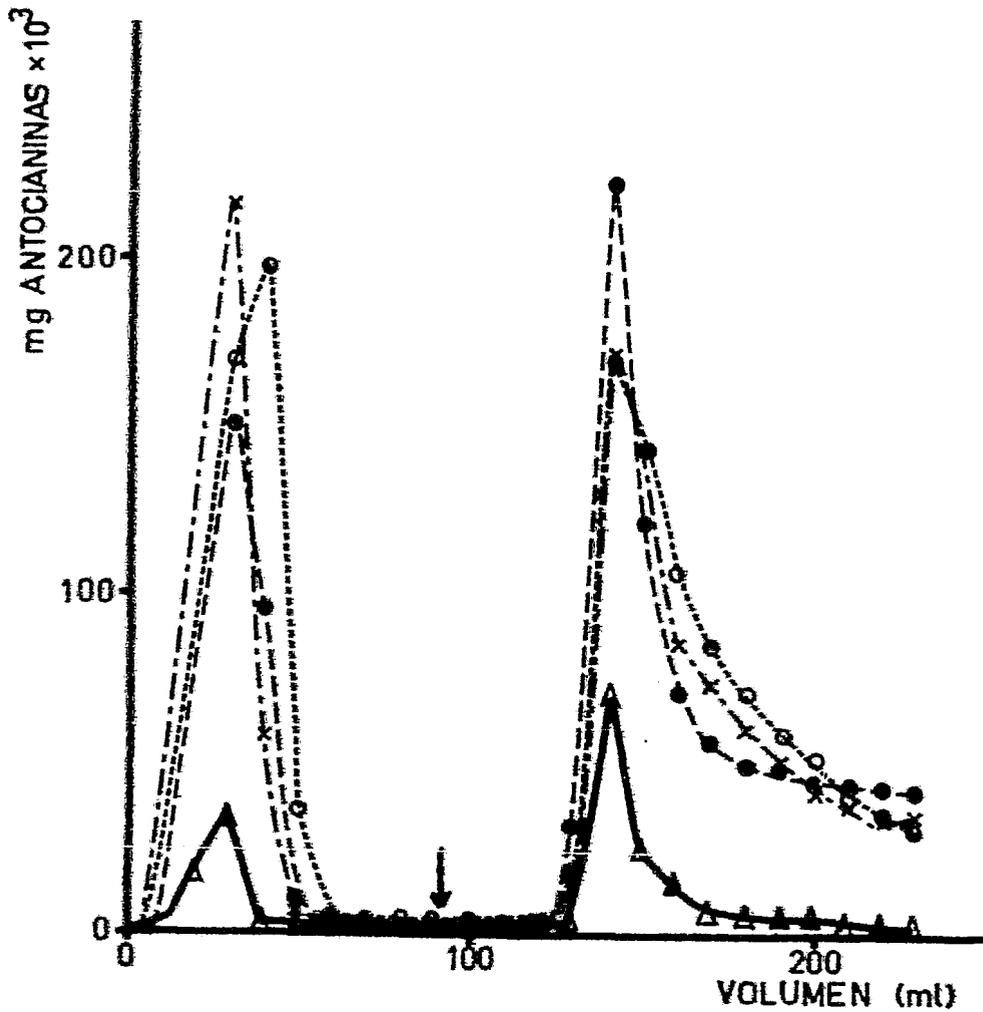
CONCENTRACION DE NaCl: 0.5 M

ALCOHOL: Etanol.

CONCENTRACION DE ALCOHOL: 50 %.

* * *

FIGURA 10. VARIACION DEL AMORTIGUADOR EN LA ELUCION DE LOS PIGMENTOS DE LA RESINA INTERCAMBIADORA DE IONES.



- AMORTIGUADOR - NaCl 0.5 M - ETANOL 50 %

--○--○-- CITRATOS

--●--●-- TARTRATOS

--x--x-- ACETATOS

--▲--▲-- TARTRATO DOBLE
DE Na Y K

* CAMBIO DE ELUYENTE



5.3 DETERMINACION DE LA ESTABILIDAD DE LOS PIGMENTOS.

La disolución amortiguadora de acetatos 0.01 M no logró mantener estable el pH de las disoluciones con los pigmentos, ya que al parecer los extractos de jamaica poseen altas concentraciones de ácidos orgánicos, entre ellos el cítrico que afectaron fuertemente la acción del amortiguador usado, por lo que fué necesario usar distintas disoluciones amortiguadoras cuyos pKa's fueran cercanos al pH deseado a una concentración 1M.

AMORTIGUADOR	pKa's	pH
Fosfato	2.14	2
Citrato	3.09	3
Succinato	4.25	4

Estas disoluciones sí lograron mantener estable el pH durante todo el experimento, eliminando así la degradación de los pigmentos por efecto del cambio de pH en las determinaciones de efecto de temperatura, luz y aire.

EFEECTO DEL pH.

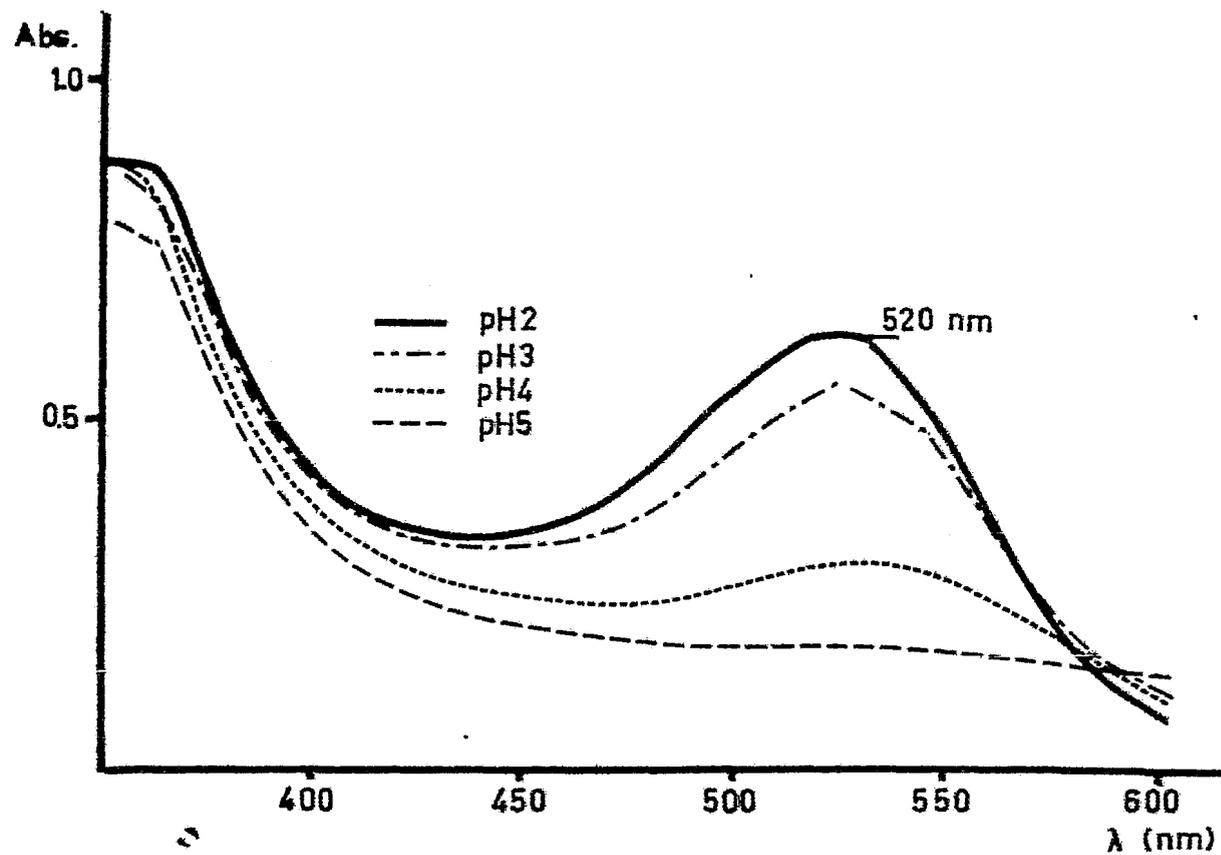
La figura 11 muestra los espectros de absorción de los extractos de jamaica crudos a distintos valores de pH.

a pH=2 las antocianinas muestran la mayor estabilidad e intensidad del color rojo, conforme aumenta el pH la estructura de los pigmentos sufre cambios que repercuten en su estabilidad y coloración (Tabla 7) . A pH=5 las antocianinas han formado la base carbinol incolora, por lo que en la figura se observa una planicie, es posible mediante una acidificación la formación de la sal flavilium con tonalidades rojas.

Debido a los cambios de estructura de las antocianinas a diferentes pH's, se afecta la λ máxima recorriéndose de 3 a 5 nm del pH 2 al 3.

El pH va a constituir una restricción muy importante en el uso de los extractos de jamaica, ya que únicamente podrán usarse en alimentos ácidos, tales como dulces, jaleas, refrescos, yogourth y gelatinas cuyos pH's fluctúan entre 2 y 3.

FIGURA 11. EFECTO DEL pH EN EL ESPECTRO DE ABSORCION DE LAS ANTOCIANINAS DE JAMAICA.



EFEECTO DE LA TEMPERATURA.

Al ser sometidos a calentamiento tanto los extractos crudos como los purificados experimentan una pérdida gradual de antocianinas, lo que se manifiesta con la aparición de pigmentos amarillentos.

Los pigmentos purificados mantenidos a pH = 3 aumentaron su estabilidad térmica casi al doble respecto a los pigmentos crudos como se observa en la tabla 11.

TABLA 11. ESTABILIDAD DE LOS PIGMENTOS DE JAMAICA A pH = 2				
TEMP. (°C)	C R U D O		P U R I F I C A D O	
	T _{1/2} * (MIN)	D * (MIN)	T _{1/2} * (MIN)	D * (MIN)
4	100 000	200 000	100 000	200 000
22	63 013	90 909	30 944	44 642
60	2 257	3 250	3 209	4 621
70	88	127	126	179
96	15	22	31	45
Z (°F)	39.05		39.44	

* Promedio de dos determinaciones

Los valores Z no tienen una diferencia significativa entre sí, pero también se observa un mayor valor para los pigmentos purificados.

Los pigmentos crudos y purificados a pH = 3 presentan valores de tiempos de vida media y valores D no muy diferentes entre sí, indicando que tienen una estabilidad térmica muy similar.

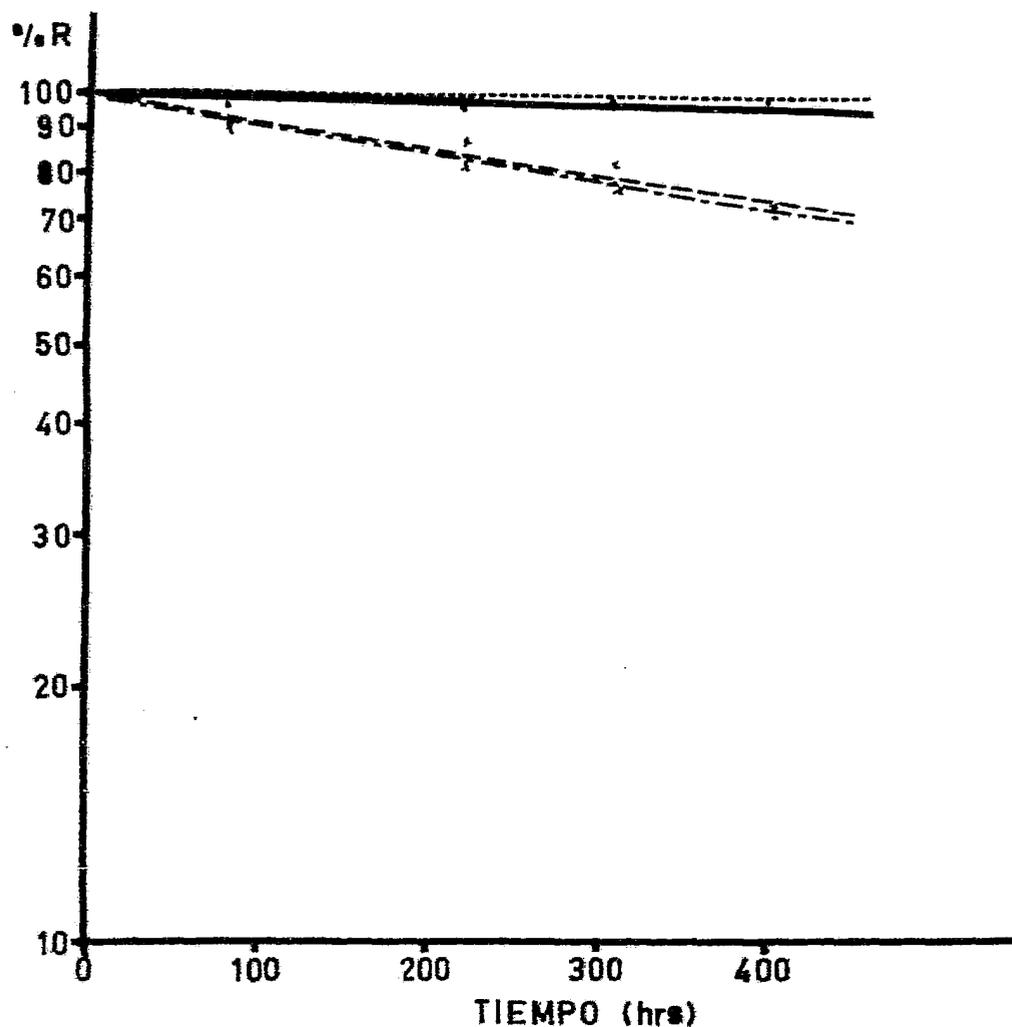
A valores más altos de temperatura (70° y 96° C), la estabilidad térmica de los pigmentos purificados disminuye.

Los valores Z indican que los pigmentos crudos tienen mayor estabilidad térmica que los purificados mantenidos a pH = 3 , la tabla 12 muestra los resultados.

TABLA 12. ESTABILIDAD DE LOS PIGMENTOS DE LA JAMAICA A pH = 3.				
TEMP. (°C)	C R U D O		P U R I F I C A D O	
	T _{1/2} (MIN)	D (MIN)	T _{1/2} (MIN)	D (MIN)
4	100 000	200 000	100 000	100 000
22	41 755	60 204	40 299	58 118
60	3 209	4 621	4 029	5 813
70	192	273	43	63
96	38	45	10	14
Z (°F)	44.45		39.18	

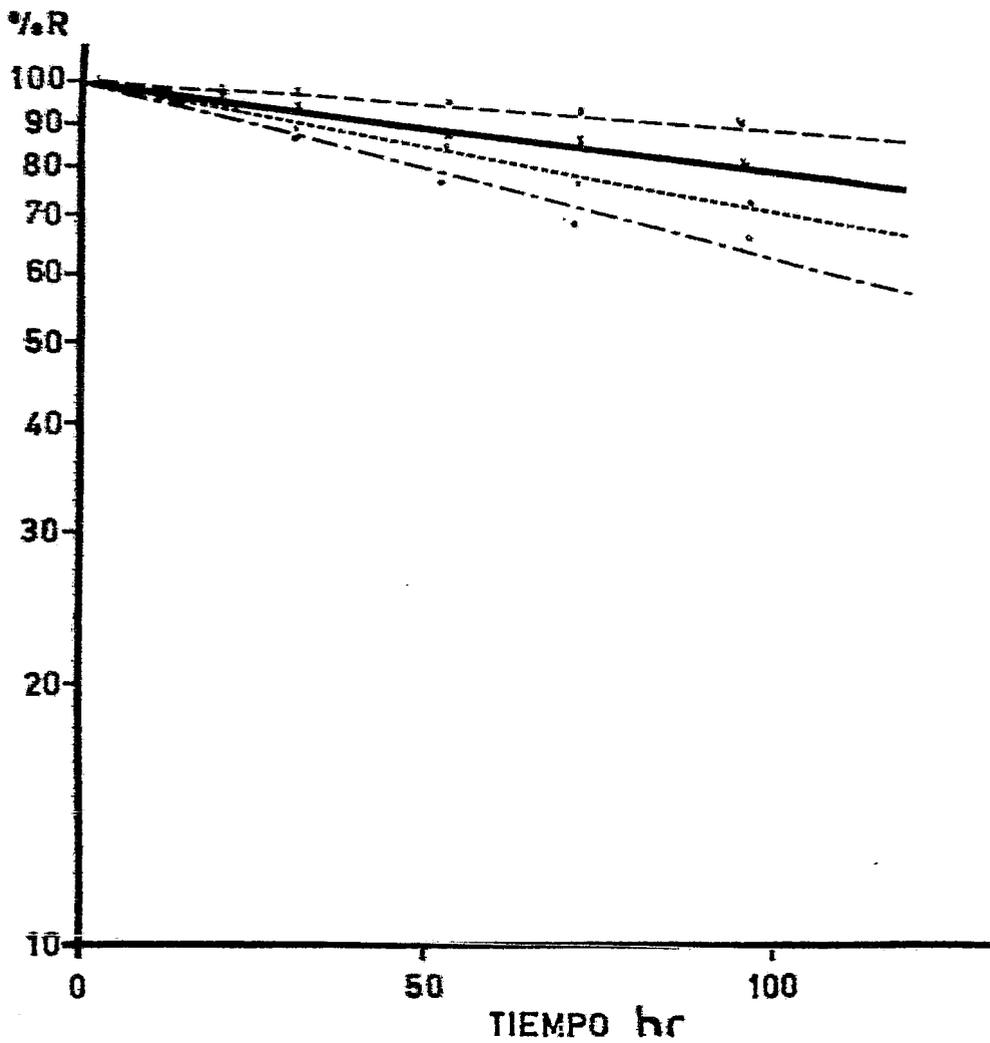
* Promedio de dos determinaciones.

FIGURA 12. ESTABILIDAD DE LAS ANTOCIANINAS DE JAMAICA A 4° C



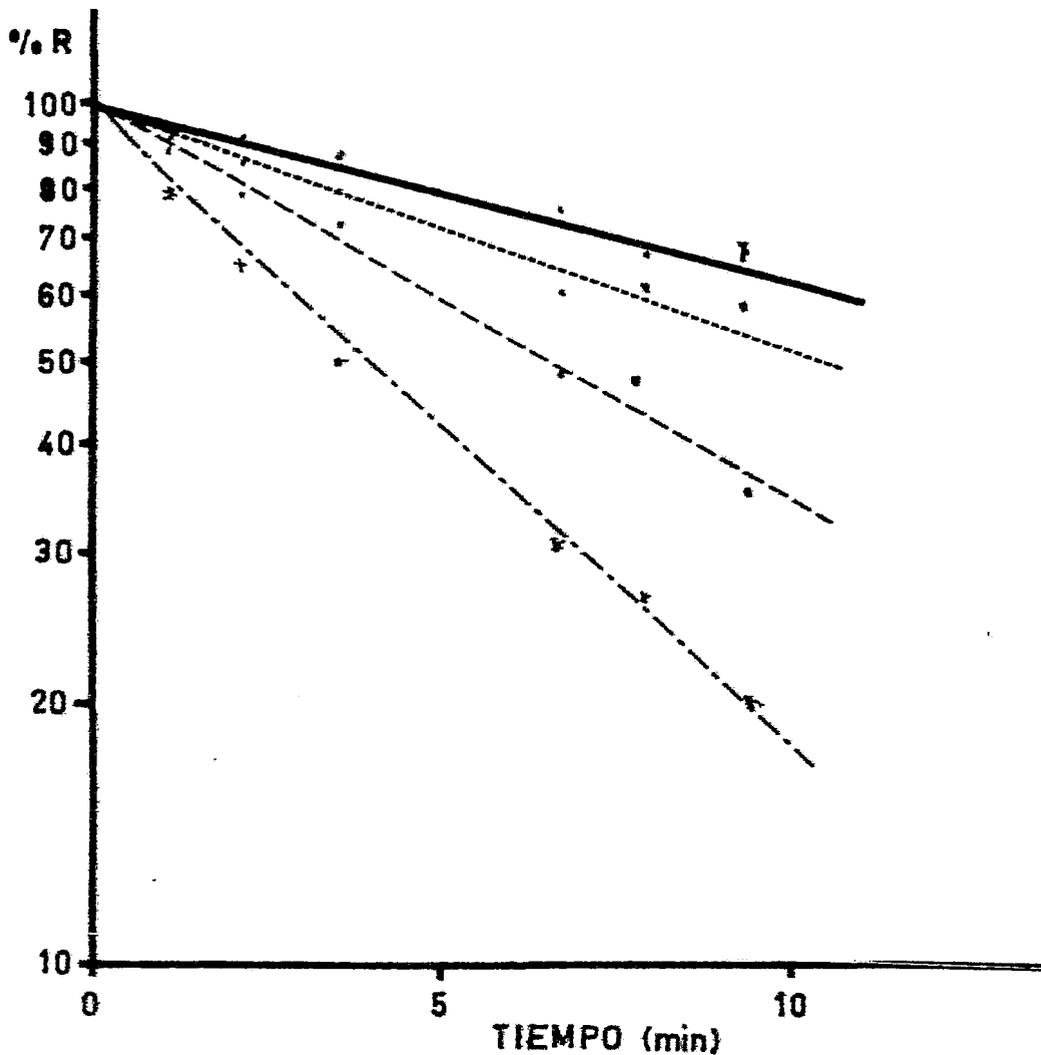
MUESTRA	pH	r^2	$k^{-1} \times 10^{-3} \text{ min}$	$T_{1/2} \text{ min}$	D min
-----	Crudo	2	0.770	0.0041	>100 000 >200 000
—————	Crudo	3	0.756	0.0026	>100 000 >200 000
.....	Purificado	2	0.9213	0.0016	>100 000 >200 000
- . - . - .	Purificado	3	0.9133	0.0058	>100 000 >100 000

FIGURA 13. ESTABILIDAD DE LAS ANTOCIANINAS DE JAMAICA A 22° C.



MUESTRA	pH	r^2	$k^{-1} \times 10^{-3} \text{ min}$	$T_{1/2} \text{ min}$	D min
---- Crudo	2	0.9396	11	63 013	90 909
— Crudo	3	0.9748	16	41 755	60 204
..... Purificado	2	0.9840	22	30 944	44 642
-.-.- Purificado	3	0.9498	17	40 299	58 118

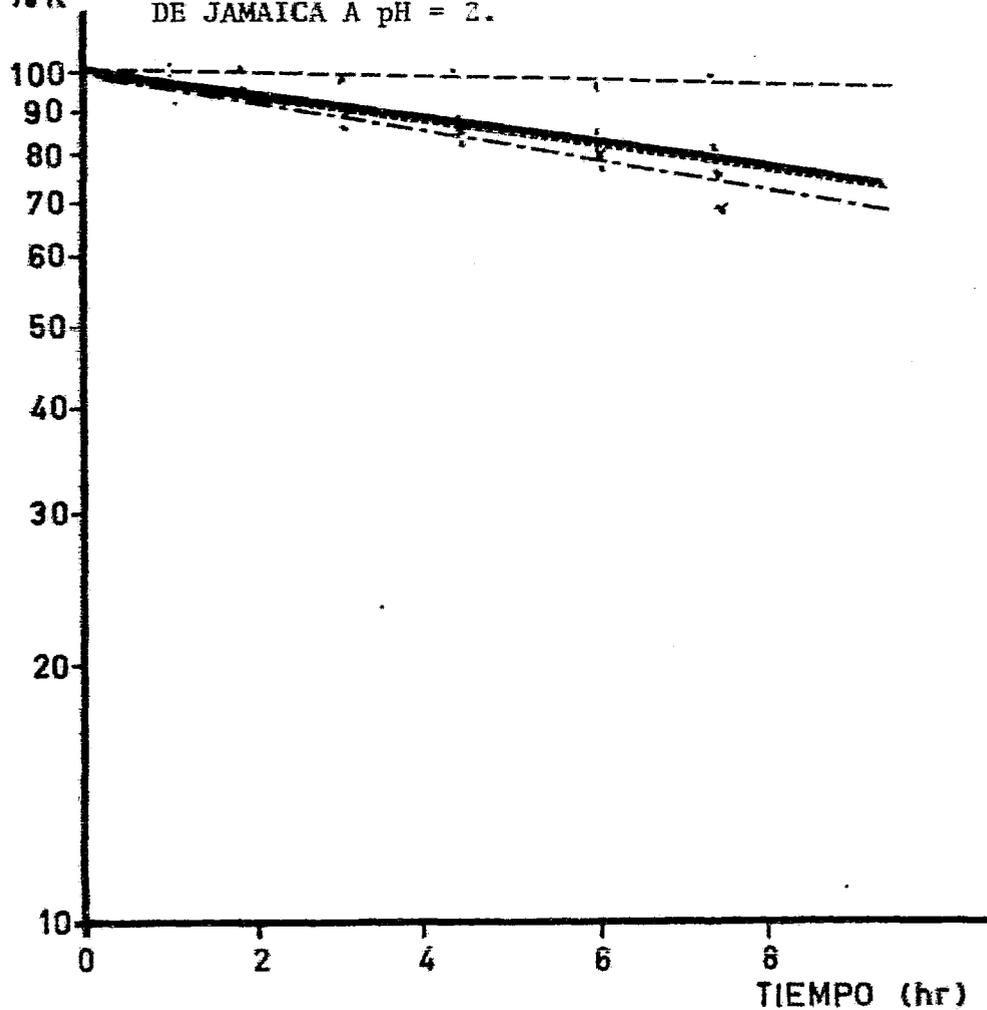
FIGURA 14. ESTABILIDAD DE LAS ANTOCIANINAS DE JAMAICA A 96° C.



MUESTRA	pH	r^2	$k^{-1} \times 10^{-3} \text{ min}$	$T_{1/2} \text{ min}$	D min
----- Crudo	2	0.9670	44	15.75	22.72
———— Crudo	3	0.8390	18	38.5	55.50
..... Purificado	2	0.8670	22	31.22	45.02
-.-.-.- Purificado	3	0.9515	67	10.34	14.77

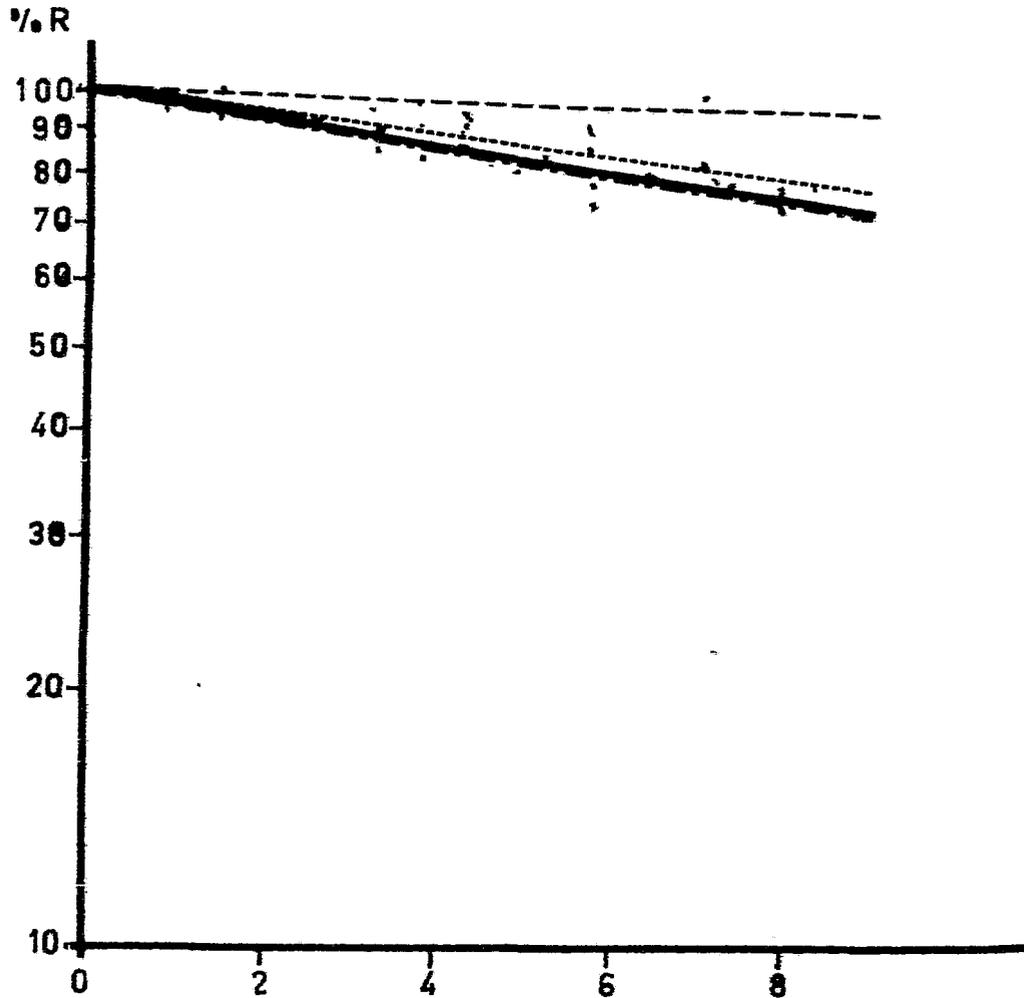
FIGURA 15. EFECTO DE LA LUZ EN LA ESTABILIDAD DE LAS ANTOCIANINAS

DE JAMAICA A pH = 2.



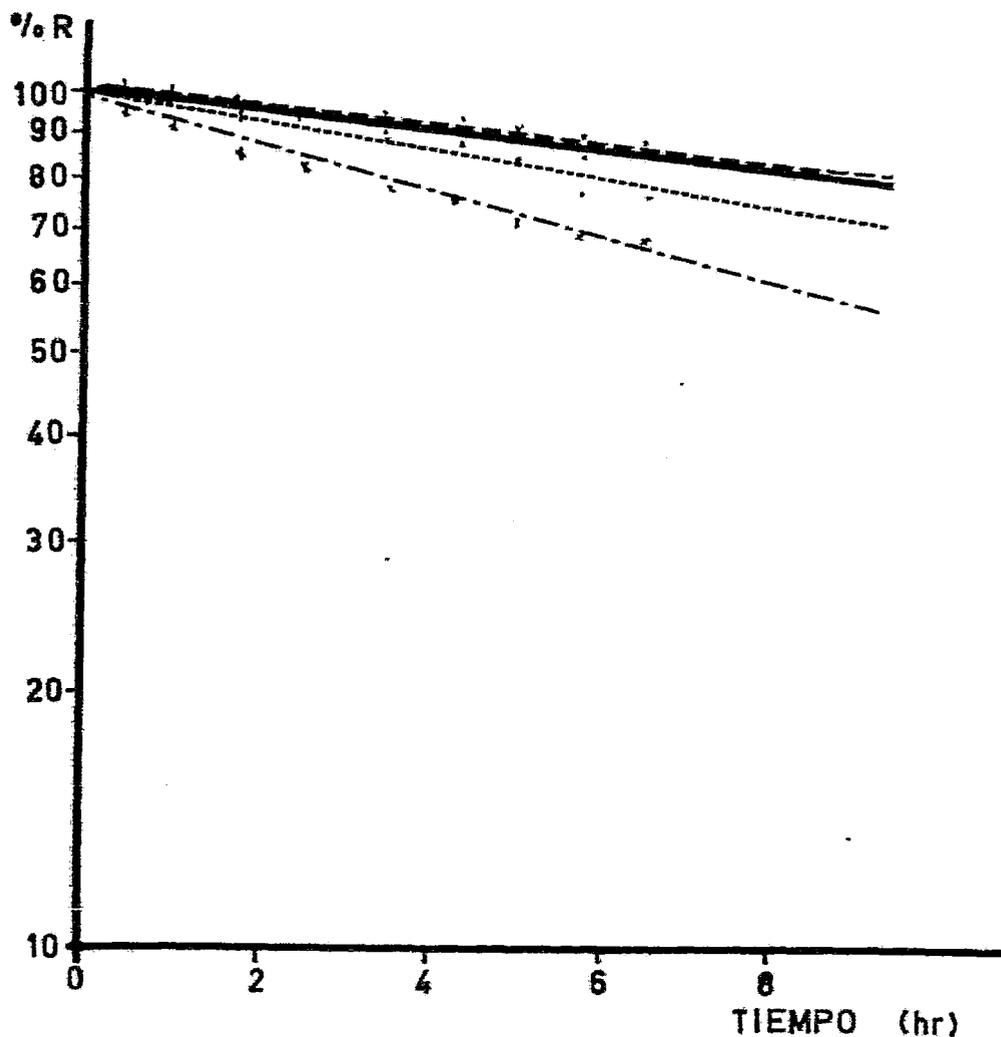
MUESTRA	TRATAMIENTO	r^2	k (MIN)	$T_{1/2}$ (MIN)	D (MIN)
-----	CRUDO OSC - N ₂	0.9950	0.040	17.11	24.69
————	CRUDO LUZ - N ₂	0.8684	0.064	10.79	15.57
-----	PURIFICADO OSC - N ₂	0.9474	0.045	15.40	22.17
-----	PURIFICADO LUZ - N ₂	0.9710	0.051	14.43	20.81

FIGURA 16. EFECTO DEL AIRE EN LA ESTABILIDAD DE LAS ANTOCIANINAS DE LA JAMAICA A pH = 2.



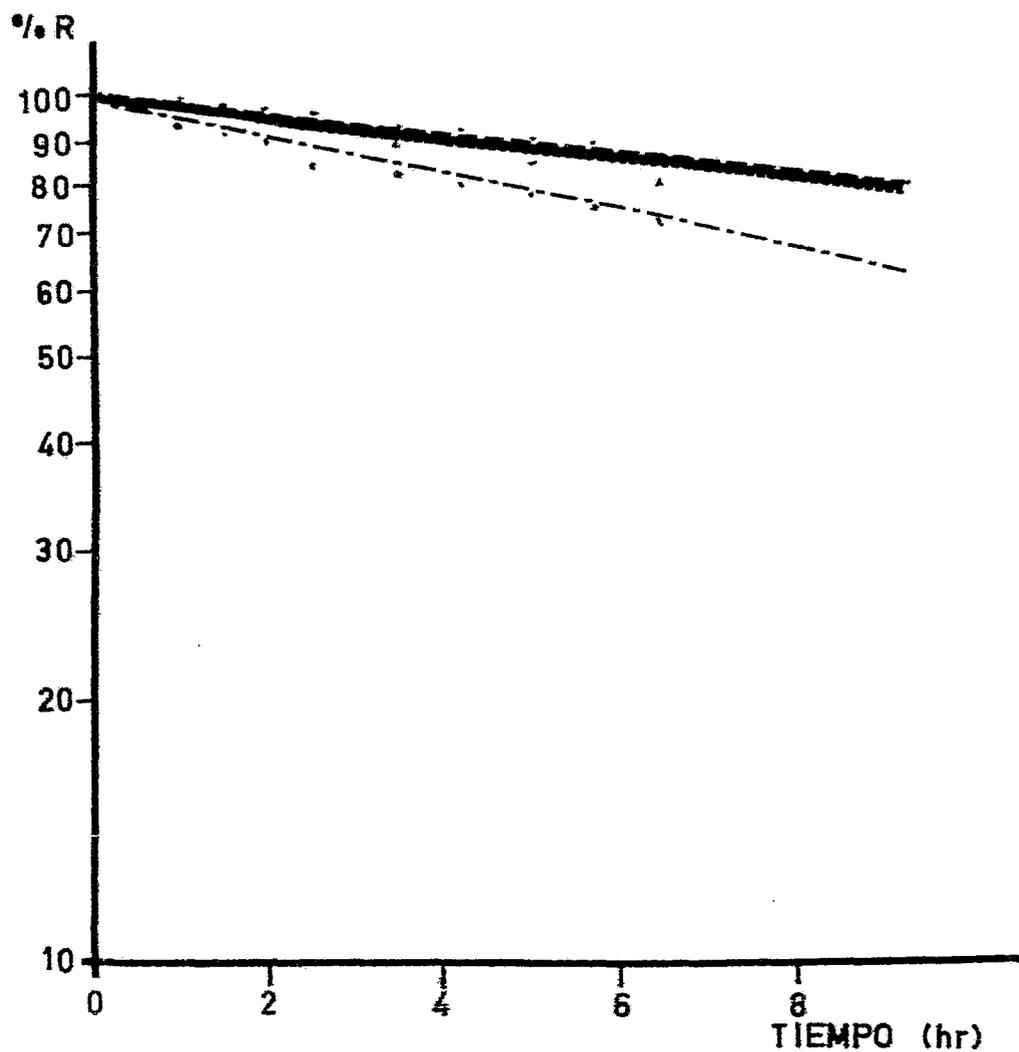
MUESTRA	TRATAMIENTO	r^2	TIEMPO (hr)		
			k (MIN)	$T_{1/2}$ (MIN)	D(MIN)
--- CRUDO	OSC - N ₂	0.6941	0.027	25.88	37.33
----- CRUDO	OSC - O ₂	0.8684	0.064	10.70	15.57
— PURIFICADO	OSC - N ₂	0.9474	0.045	15.40	22.17
- - - PURIFICADO	OSC - O ₂	0.9710	0.051	13.61	19.64

FIGURA 17. EFECTO DE LA LUZ EN LA ESTABILIDAD DE LAS ANTOCIANINAS DE JAMAICA A pH = 3.



MUESTRA	TRATAMIENTO	r^2	k(MIN)	$T_{1/2}$ (MIN)	D(MIN)
-----	CRUDO OSC - N ₂	0.9493	0.045	15.45	22.28
-----	CRUDO LUZ - N ₂	0.9761	0.061	11.27	16.26
————	PURIFICADO OSC - N ₂	0.9600	0.036	18.99	27.40
-----	PURIFICADO LUZ - N ₂	0.9528	0.072	9.68	13.97

FIGURA 18. EFECTO DEL AIRE EN LA ESTABILIDAD DE LAS ANTOCIANINAS DE LA JAMAICA A pH = 3.



MUESTRA	TRATAMIENTO	r^2	k(MIN)	$T_{1/2}$ (MIN)	D (MIN)
-----	CRUDO OSC - N ₂	0.9493	0.045	15.45	22.28
.....	CRUDO OSC - O ₂	0.9510	0.046	14.92	21.52
————	PURIFICADO OSC - N ₂	0.9600	0.036	18.99	27.40
-.-.-.-	PURIFICADO OSC - O ₂	0.9746	0.063	11.07	15.97

5.4. EVALUACION MICROBIOLOGICA.

La tabla 15 muestra las cuentas microbianas obtenidas a las 48 horas de incubación de los extractos crudos y purificados.

Los extractos de jamaica crudos constituyen un medio poco favorable para el desarrollo de microorganismos, debido a su alta acidez, baja concentración de azúcares y a que los pigmentos en sí tienen acción antiséptica (50).

El proceso de purificación logró disminuir éstas cuentas microbianas, debido a la eliminación de sustancias nutrientes para los microorganismos, como pueden ser azúcares, sales minerales, etc. El tipo de microorganismos que generalmente se desarrollan son: bacterias acidorresistentes así como hongos y levaduras.

TABLA 15. CUENTAS MICROBIANAS DE LOS EXTRACTOS CRUDOS Y PURIFICADOS
DE LA JAMAICA.

EXTRACTO	CUENTA TOTAL/100 G DE FLOR	HONGOS Y LEVADURAS/100 G DE FLOR
CRUDO	6 500	1 800
PURIFICADO	4 200	1 100

* PROMEDIO DE DOS DETERMINACIONES.

5.5. EVALUACION SENSORIAL.

A continuación se muestran los resultados obtenidos en la prueba triangular y hedónica para los extractos crudos y purificados.

PRUEBA TRIANGULAR

a. EXTRACTO CRUDO. De la tabla 16 se concluye que las muestras fueron significativamente diferentes, ya que los panelistas lograron identificarlas con más del 99 % de confiabilidad tanto en la evaluación del color como del sabor.

Los panelistas mostraron en un 35.5 % mayor aceptabilidad para la gelatina preparada con el extracto crudo, calificándola como más adecuada y de apariencia natural para el sabor fresa; en cuanto al sabor se detectó que el colorante crudo le confiere mayor acidez al producto y un sabor extraño definido como frutal, lo que en algunos casos fué aceptable.

b. PIGMENTOS PURIFICADOS. De la tabla 16, sólo con 95 % de confiabilidad se detectó diferencia. El grado de diferencia de color para el 87 % del grupo fué entre leve y moderado.

El 53 % del grupo mostró mayor aceptabilidad hacia las muestras preparadas con los pigmentos purificados.

Los pigmentos purificados eluidos con el amortiguador de citratos y acetatos le confirieron un sabor muy salado a las gelatinas, por lo que se intentaron las otras formas de elución, siendo la realizada con el amortiguador de tartratos el mejor por el rendimiento obtenido así como por las características sensoriales de los pigmentos purificados.

Las gelatinas preparadas con el extracto purificado salado únicamente se les evaluó el color.

Se elaboraron algunas muestras con los nuevos extractos para comprobar que se había eliminado el salado, no se aplicaron evaluaciones sensoriales a éstas.

TABLA 16. COMPARACIONES TRIANGULARES (30).

NUMERO TOTAL DE COMPARACIONES	NUMERO DE SELECCIONES CORRECTAS PARA IMPARES		
	19:1 (Nivel de 5%)	99:1 (Nivel de 1%)	999:1 (Nivel de 0.1%)
4	-	-	-
6	5	6	-
8	6	7	8
10	7	8	9
12	9	9	10
15	10	11	12
18	11	12	13

EXTRACTO CRUDO:

n = Número total de comparaciones = 13

Selecciones correctas = 12

EXTRACTO PURIFICADO:

n = Número total de comparaciones = 17

Selecciones correctas = 11

PRUEBA HEDONICA.

Se evaluó únicamente el color de las gelatinas preparadas con los distintos pigmentos.

La escala fué traducida con los siguientes valores para el análisis de varianza.

MUY POBRE	POBRE	REGULAR	BUENO	EXCELENTE
- 2	- 1	0	+ 1	+ 2

CALIFICACION	CRUDO			PURIFICADO			CONTROL		
	f_a	$f_a x$	$f_a x^2$	f_b	$f_b x$	$f_b x^2$	f_c	$f_c x$	$f_c x^2$
+ 2	4	8	16	6	12	24	5	10	20
+ 1	5	5	5	8	8	8	19	19	19
0	3	0	0	3	0	0	5	0	0
- 1	1	-1	1	0	0	0	1	-1	1
- 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	13	12	22	17	20	32	30	28	40

f = Frecuencia = veces que se repite un evento.

a = Pigmentos crudos

b = Pigmentos purificados

c = Control

ANALISIS DE VARIANZA

$$n = f_a + f_b + f_c \quad ; \quad n = 13 + 17 + 30 = 60$$

$$\sum fx = f_a x + f_b x + f_c x \quad ; \quad \sum fx = 12 + 20 + 28 = 60$$

$$\sum fx^2 = f_a x^2 + f_b x^2 + f_c x^2 \quad ; \quad \sum fx^2 = 22 + 32 + 40 = 94$$

$$\text{FACTOR DE CORRECCION F.C.} = \frac{(\sum fx)^2}{n} \quad ; \quad \text{F.C.} = \frac{(60)^2}{60} = 60$$

$$\begin{aligned} \text{VARIANZA TOTAL (corregida)} &= \sigma^2_{\text{tot. (corr)}} = \sum fx^2 - \text{F.C.} \\ \sigma^2_{\text{tot. (corr)}} &= 94 - 60 = 34 \end{aligned}$$

$$\text{VARIANZA DE FORMULACIONES} = \sigma^2_{\text{form.}}$$

$$\sigma^2_{\text{form}} = \frac{(\sum f_a x^2)^2}{f_a} + \frac{(\sum f_b x^2)^2}{f_b} + \frac{(\sum f_c x^2)^2}{f_c} - \text{F.C.}$$

$$\sigma^2_{\text{form}} = \frac{(12)^2}{13} + \frac{(20)^2}{17} + \frac{(28)^2}{30} - 60 = 2.74$$

$$\text{VARIANZA RESIDUAL} = \sigma^2_{\text{residual}} = \sigma^2_{\text{tot.}} - \sigma^2_{\text{form.}}$$

$$\sigma^2_{\text{residual}} = 34 - 2.74 = 31.26$$

TABLA DE DUNCAN

FUENTE DE VARIANZA	GRADO DE LIBERTAD	VARIANZA	VARIANZA MEDIA (a)	RELACION DE VARIANZAS (b)	F REQUERIDA PARA SIGNIFICANCIA (c)	
					5%	1%
FORMULACION	2	2.74	1.37	2.5	19.47	99.48
RESIDUAL	57	31.26	0.55	1.0	- -	- -
TOTAL	59	34.00	--	- -	- -	- -

(a) $VARIANZA MEDIA = \frac{\text{varianza}}{\text{gdo. de libertad}}$

(b) $RELACION DE VARIANZAS = \frac{\text{varianza media de formulaciones}}{\text{varianza media residual}}$

(c) Tabla 92, Kramer y Twigg, 1979 (30).

$F_{\text{calculada}} < F_{\text{teórica}} ; 2.5 < 19.47$

* No hay diferencia significativa entre las formulaciones con un nivel de significancia del 99%.

6.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

- El mejor método recomendado para la extracción de los pigmentos de jamaica, fué el realizado con Pectinasa al 1% a una temperatura de 40° C, debido a que: a) Extrae mayor cantidad de pigmentos b) Trabaja en condiciones moderadas de pH y temperatura, disminuyendo así la degradación de los pigmentos por éstos factores c) Puede usarse inmovilizada.
- Es conveniente realizar estudios acerca de las condiciones óptimas de operación de las enzimas pécticas utilizadas para la extracción de los pigmentos de la flor de jamaica.
- La cromatografía de intercambio iónico es un método de purificación sencillo y aplicable a nivel industrial.
- Las mejores condiciones de elución durante la purificación, fueron con la disolución amortiguadora de tartratos 0.01 M - NaCl 0.5 M - Etanol 50 %, con el que se obtuvo un buen rendimiento y las características sensoriales de los pigmentos fueron adecuadas.
- El exceso del amortiguador de tartratos es precipitado como cremor tártaro al momento de ajustar el pH de las disoluciones con los pigmentos purificados, utilizando KOH al 40%. El cremor tártaro es un subproducto con un buen valor comercial.
- El proceso de purificación logró mejorar la estabilidad de los pigmentos mantenidos a pH = 2, aumentando su termoestabilidad.

- El proceso de purificación disminuyó ligeramente la estabilidad de los pigmentos a la luz y el aire.
- Al eliminar contaminantes tales como sustancias pécticas, mucílagos, iones metálicos, etc., se mejora notablemente la tonalidad de los extractos en el proceso de purificación.
- Las gelatinas preparadas con los pigmentos purificados tuvieron mayor aceptación entre el grupo de panelistas, calificándolas de apariencia más natural que las preparadas con la mezcla de colorantes artificiales.
- No hubo diferencia significativa entre las gelatinas preparadas con los distintos colorantes (extracto crudo, pigmentos purificados y mezcla de colorantes artificiales), al 5% de significancia.
- Los pigmentos purificados no impartieron ninguna característica adicional como olor y sabor a los productos coloreados con ellos.
- La purificación logró disminuir ligeramente la carga microbiana de los extractos.
- Es posible la aplicación de las antocianinas de jamaica purificadas como agentes colorantes de alimentos, siendo capaces de sustituir a los colorantes artificiales rojos dentro de ciertas restricciones como son: pH, temperaturas de proceso, vida de anaquel, etc. que determinaran el tipo de productos en que sean usados.

- Se sugiere la realización de estudios acerca del aprovechamiento integral de la jamaica.

* * *

7.- BIBLIOGRAFIA

- 1.- Abdel-Karem,M.I.;Brennan.J.G."A study of the reconstitution characteristics of spray dried Hibiscus sabdariffa (Karkadeh) Sudan Journal of Food Science an Technology 7:52-61,1975.
- 2.- Ahmad,M.U.;Hussain,S.K.;Ahmad,I.;Osman,S.M."Hibiscus sabdariffa seed oil; a re investigation" Journal of the Science of Food and Agriculture 30:(4), 424-428, 1979.
- 3.- Amerine,M.A.;Pangborn,R.M. and Roessler,E.B."Principles of sensory evaluation of food" Academic Press, New York,1965.
- 4.- Anuario Estadístico Industrial,DGEA-SARH,1980-1981.
- 5.- Azizul,I.M.;Mukhtar,K.;Maisan,A.J.;Khan,N.A."Chemical pulp for writing and printing paper from mesta (Hibiscus sabdariffa) stick by the kraft process and pilot plant production-of paper" Science Res. 5:(4), 181-187, 1968.
- 6.- Badui,D.S."Química de los alimentos" ED. Alhambra,Cap. 7, - México 1981.
- 7.- Basu,N.C.;Bose,S."Studies on the growth and development of different bast fibre crops" Plant science 6:59-67, 1974.
- 8.- Brouk,B."plant consumed by man" Academic Press 137,319,320, 1975.
- 9.- Clydesdale ,F.M.;Main,J.H.;Francis,F.J."Roselle (Hibiscus - sabdariffa L.) anthocyanins as colorants for beverages and gelatin desserts" Journal of food protection 42:(3),204 - 207, 1979.

- 10.- Clydesdale, F.M. "Instrumental techniques for color measurement of food". Food Technol. 53: (10) 52, 1976.
- 11.- Clydesdale, F.M.; Main, J.H.; Francis, F.J.; Hayes, K.M. "Effect of anthocyanin preparation as colorant on higroscopicity of dry-pack foods" Journal of food protection 42: (3) 225-227, 1979.
- 12.- Crane, J.C. "Roselle a potentially important plant fiber" Econ. Botany 3: 89-103, 1949.
- 13.- Cronquist, A. "Introducción a la Botánica" Ed. CECSA 2a.ed 1977.
- 14.- Chevalier, J. "The dietetic use of the flowers of Hibiscus sabdariffa" Bull. Science Pharmacology 44: 195-198, 1937.
- 15.- Dinesen, N. "Toxicology and regulation of Natural colors" Food Technol. 29: (5), 40 1975.
- 16.- Du, C.T. and Francis, F.J. "Anthocyanins of Roselle (Hibiscus sabdariffa L." J. Food Sci. 38: (5) 810-812, 1973.
- 17.- Esselen, W.B.; Sammy, G.M. "Applications of Roselle as a red food colorant" Food Prod. Development 9: (8) 37, 38, 40, 1975.
- 18.- Esselen, W.B.; Sammy, G.M. "Roselle a natural red colorant for foods" Food Prod. Development 7: (1) 80, 82, 86, 1973.
- 19.- Fennema, O.R. "Principles of food science" ED. Marcel Dekker New York, 1976.
- 20.- Food Colors, Food Technol. 34: (7), 77-84, 1980

- 21.- Fuleki, T. and Francis, F.J. "Quantitative methods for anthocyanins 3. Purification of Cranberry anthocyanins" J. Food Sci. 33: 266-274 , 1968.
- 22.- Fuleki, T. and Francis, F.J. "Quantitative methods for anthocyanins 4. Determination of individual anthocyanins in Cranberry and Cranberry products" J. Food Sci 33:471-478, 1968.
- 23.- Garduño, A.T. "Desarrollo de Alimentos" México 1978.
- 24.- Gherardi, S.; Bigliardi, D.; Poli, M. "Storage stability of natural colouring matters that could be used in manufacture of fruit syrup and soft drink" Industria Conserve 53:(3)163-167, 1978.
- 25.- Hall, R.L. "Flavor research and food acceptance" Reinhold Pub. Corp. New York 1958, pag 224 (Citado en Food Colors, Food Technol. 34:(7) 77-84, 1980.
- 26.- Hall, R.L. "Grass-concept and application" Food Technol. 29:(1) 48-53, 1975.
- 27.- Kerharo, J. "Senegal bisap (Hibiscus sabdariffa) or Guinia sorrel or red sorrel" Plant Med. Phytother 5:(4) 277-281, 1971.
- 28.- Kirschman, J.C. "Evaluating the safety of food additives" Food Technol. : (3) 75-79, 1983.
- 29.- Kramer, A. "Benefits and risks of color additives" Food Technol. 32:(8) 65-67, 1978.

- 30.- Kramer,A. and Twigg,B.A."Quality control for the Food Industry" 3rd. ed, Vol. 1 AVI Pub. Co. Westport,Coon,1970.
- 31.- Kraybill,H.F."Proper perspectives in extrapolation of experimental carcinogenesis data to humans"Food Technol. 32:(8) 62-64, 1978.
- 32.- Lin,R. and Hilton,B.W."Purification of commercial grape pigments" J. Food Sci. 45:(2) 297-306,309,1980.
- 33.- Mackinnery,G. and Chichester "The color problem in food" Advances in Food research. Academic Press (7),301,351,1954.
- 34.- Main,J.H.; Clydesdale,F.M. and Francis,F.J. "Spray drying anthocyanins concentrates for use as food colorants" J. Food Sci. 43:(6) 1693,1694,1697, 1978.
- 35.- Marcel,G."Substitute fibers for jute" Industrie textile No. 806,5-8, 1954.
- 36.- Merck Index, Published by Merck & Co.,Inc. 9th ed;Rahway, N.J. USA, 1976.
- 37.- Metivier,R.P.;Francis,F.J. and Clydesdale,F.M."Solvent extraction of anthocyanins from wine pomace" J. Food Sci. 45: 1899-1100, 1980.
- 38.- Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytic Chemists,11th ed.,Washington,D.C. USA 1970.
- 39.- Palamidis,N. and Markakis,P. "Stability of grape anthocyanins in a carbonated beverage" J. Food Sci. 40:1047-1049,1975.

- 40.- Philip,T. "An anthocyanins recovery system from grape waste" J. Food Sci. 39: 859, 1974.
- 41.- Peterson,A. "Intercambiadores celulósicos de iones"
ED. Manual Moderno, México 1975.
- 42.- Pritzker,J. and Jungkunz,R. "Karkade tea" Mitt. Lebensm, Hyg. 28: 15-19, 1937.
- 43.- Proyecto para la industrialización de la jamaica "Desarrollo Agroindustrial DGEA-SARH.
- 44.- Reaubourg and Monceaux R.H. "The chemical,botanical and pharmacological characteristics of the karkade (Rosselle) Hibiscus sabdariffa" J. Pharm. Chim. 9:(1) 292-305,1940.
- 45.- Reglamento de Aditivos para Alimentos. Diario Oficial del 15 de Febrero de 1958, México.
- 46.- Saeed.A.R.;Ahmed,M.O. "Storage stability of carbonated beverage from roselle calyces (Hibiscus sabdariffa)"Sudan Journal of Food Sci. and Technol. 9: 78-81, 1977.
- 47.- Saguy,F.;Kopelman,I. and Mizrahi."Thermal kinetic degradation of betanin and betalamic acid" J. Agric. Food Chem: 26:(2) 360,362 ,1978.
- 48.- Sakellariades,H.C. and Luh,B.S. "Anthocyanins in Barbera grapes" J. Food Sci. 39:329-333, 1974.
- 49.- Schramm,A.T. "Politics Vs. Science in food regulation" Food Technol. 32:(8) 56-61, 1976.

- 50.- Sharaf,A. "The pharmacological characteristics of Hibiscus sabdariffa" *Planta. Med.* 10:48-52, 1962.
- 51.- Shoeb,Z.E. "Chemical composition of Anona squamosa, Hyoscyamus niger and Hibiscus sabdariffa seed oils" *Grasas y aceites* 21:(5) 270-271, 1970.
- 52.- Tannahil,R. "Food in History" Stein and Day. New York, 1973 (Citado en *Food Colors, Food Technol.* 34:(7) 77-84 1973.
- 53.- Valadez,S.;Valadez,A. y Chatelan "Utilización de los pigmentos de la tuna cardona como posible colorante alimentario" *S. Fruticultura Mexicana* No. 15-18, 1979.
- 54.- Van Buren,J.P.;Hrazdina,G. and Robinson."Color of anthocyanins solution expressed in lightness and chromaticity terms" *J. Food Sci.* 39: 325-328, 1974.
- 55.- von Elbe,J.H.;Il Youg,M. and Amundson,C."Color stability of betanin" *J. Food Sci.* 39: 334-337, 1974.
- 56.- von Elbe,J.H. "Stability of betalaines as food colors" *Food Technol.* 29:(5) 42-44, 1975.
- 57.- Weissler,A. "FDA regulation of food colors" *Food Technol.* 29:(5) 38,46, 1975.
- 58.- Williams,M. and Hrazdina,H. "Anthocyanins as food colorants.Effect of pH on the formation of anthocyanin-rutin complexes" *J. Food Sci.* 44:(1) 66-68, 1979.

59.- Wodicka,V.O. "Food ingredient safety criteria"

Food Technol 31:(1) 84-88, 1977.

A P E N D I C E A

RESUMEN DE LAS CONDICIONES Y RESULTADOS DE LA EXTRACCION
DE LOS PIGMENTOS DE LA FLOR DE JAMAICA.

1. METODO POR PERCOLACION.

DISOLUCION DE EXTRACCION	T°C	t(MIN) ^a	MG ANT/100 G FLOR
AC. TARTARICO 1% - ETOH 10%	80°	75	0.103
AC. CITRICO 1% - MEOH 10%	80°	90	0.690

a.- Tiempo total de extracción

2. <u>METODO POR INMERSION.</u>			
DISOLUCION DE EXTRACCION	T° C	t (MIN) ^a	MG ANT/100 G FLOR
ETOH 95% - AC. CITRICO 1%	20	50	40.61
ETOH 95% - AC. CITRICO 1%	40	70	148.11
ETOH 95% - AC. CITRICO 1%	60.	60	120.3
AC. CITRICO 1%	20	90	140.7
AC. CITRICO 1%	40	70	183.3
AC. CITRICO 1%	60	40	156.7
AC. CITRICO 1%	96	60	90.8
PECTINASA 1%	40	80	204.6

a.- Tiempo de máxima extracción.

A P E N D I C E B

EXTRACCION
PERCOLACION-INMERSION

Concentración al vacío
30° C. Filtración

Sustancias de alto P.M.

EXTRACTO CRUDO

PURIFICACION
CROMATOGRAFIA DE INTERCAMBIO IONICO:
DOWEX 50 W-X-8 Catiónica fuerte

Concentración

EXTRACTO PURIFICADO

PRUEBAS DE ESTABILIDAD
(pH, T° C, luz, aire)

APLICACION A UN
ALIMENTO

EVALUACION
MICROBIOLOGICA

EVALUACION SENSORIAL

A P E N D I C E C.

PURIFICACION DEL COLORANTE ROJO DE LA JAMAICA.

1.- EXTRACCION

PECTINAS 1%, 40° C

INMERSION

CONCENTRACION AL

VACIO 30°-35° C

FILTRACION EN GASA

EXTRACTO CRUDO

2.- PURIFICACION

CROMATOGRAFIA DE

INTERCAMBIO IONICO

Dowex 50 W-X-8

ELUCION: TARTRATO 0.01 M

NaCl 0.5 M ; 50% ETANOL

pH = 3.5 con KOH 40%

FILTRACION AL VACIO

CONCENTRACION AL

VACIO 30°-35°C

pH = 3.5 con KOH 40%

FILTRACION AL VACIO

PIGMENTOS PURIFICADOS

CREMOR TARTARO