



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**OBTENCIÓN, APLICACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA VIDA DE ANAQUEL DE UN
ALIMENTO ADICIONADO CON PIGMENTOS CAROTENOIDES (ASTAXANTINA)**

OBTENIDOS DEL CEFALOTÓRAX DE CAMARÓN

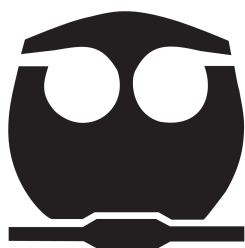
Tesis

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA DE ALIMENTOS

PRESENTA

Elizabeth Tenorio García



MÉXICO, D.F.

AÑO 2013



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.



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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: M. en C. Cornejo Barrera Lucía

VOCAL: QFB Dulce María Gómez Andrade

SECRETARIO: M. en C. Rolando Salvador García Gómez

1er. SUPLENTE: M. en A. Landy Irene Ramírez Burgos

2° SUPLENTE: Dra. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa

Sitio donde se desarrolló el tema

Laboratorios 301, 302 y 303 de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental, (LIQAyQA) del Conjunto E de la Facultad de Química de la UNAM

ASESOR DEL TEMA:

M. en C. Rolando Salvador García Gómez

SUPERVISOR TÉCNICO:

Dra. María del Carmen Durán Domínguez

SUSTENTANTE:

Elizabeth Tenorio García

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México y en especial a la Facultad de Química por la excelente formación académica recibida

Al Colegio de Profesores de la Facultad de Química y a la Sección 024 del AAPAUNAM por el apoyo otorgado a través de la Cátedra Ángela Sotelo López recibida durante el periodo de abril a septiembre del 2013

Al M. en C. Rolando S. García Gómez por la asesoría recibida durante toda la parte experimental y a la Dra. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa por su confianza, apoyo, sus valiosos consejos y por todas las oportunidades y experiencias que me ha brindado durante la realización de la tesis

Al Candidato a Dr. y M. en I. Leonel Amábilis Sosa por su valiosa amistad y por los consejos recibidos para realizar el análisis estadístico de esta tesis

A la Dra. Amelia Farrés Sarabia y a la Dra. Carolina Peña Montes por el préstamo incondicional de la ultracentrífuga utilizada para la extracción de los pigmentos carotenoides

A la Dra. Patricia Severiano Pérez por su asesoría en el uso del colorímetro y en la interpretación de los resultados

A mi familia por todo el apoyo incondicional durante la carrera

A mis amigos Mayra, Elizabeth, Paty, Rosa, Fabiola, Fátima y Moisés por su apoyo y por todos los momentos inolvidables que pasamos

A Dinath, Vianney y Jocelyn por su ayuda en la realización de la tesis. ¡Mil gracias!

A mis compañeros de laboratorio: Daniel, Tania, Leonel, Lupita Soto, María Salinas, Juan José, Eliana, Flor, Victoria, Anaith, José Manuel, Benjamín, Samuel, Jesús, Miguel Ángel, Carlos, Mario, Sra. Margarita, Oziel, Francisco, Erick, Marcos y Luis que sin ustedes no hubiera sido lo mismo. ¡Gracias! por brindarme su valiosa amistad y por su ayuda recibida durante las pruebas de vida de anaquel que tanto disfrutaron

A los sinodales de mi jurado por la gentileza de dedicarle tiempo en la lectura y correcciones de esta tesis

DEDICATORIAS

*A mi familia que gracias a su amor, paciencia y comprensión incondicional han hecho posible
que un sueño de tantos se haga realidad*

El comienzo es la parte más importante de la obra (Platón)

ÍNDICE

	Pág.
RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	2
1.1. Planteamiento del problema	3
1.2. Objetivos	3
1.2.1. Objetivo general	3
1.2.2. Objetivos particulares	3
1.3. Hipótesis	4
2. MARCO TEÓRICO	5
2.1. Justificación	5
2.2. Antecedentes	5
2.2.1. La acuicultura y pesca en México	5
2.2.2. Producción de camarón a nivel mundial	7
2.2.3. Producción de camarón en México	8
2.2.4. Características del camarón	8
2.2.4.1. Morfología externa del camarón	8
2.2.4.2. El color en el camarón	9
2.2.4.3. Subproductos del camarón	10
2.2.5. Pigmentos carotenoides	11
2.2.5.1. Estructura de los carotenoides	11
2.2.5.2. Propiedades físicas y químicas de los carotenoides	13
2.2.5.3. Astaxantina	14
2.2.6. Aditivos alimentarios	15
2.2.6.1. Uso y clasificación de los colorantes alimenticios	16
2.2.6.2. Tendencia mundial de los colorantes alimenticios	19
2.2.7. Evaluación del color en los alimentos	19
2.2.7.1. Definición de color	20
2.2.7.2. Fundamento químico del color	20
2.2.7.3. Principio de las teorías del color	21
2.2.7.4. La percepción del color	22
2.2.7.5. Atributos del color percibido	23
2.2.7.6. Colorimetría	24
2.2.7.7. Valores triestímulo	24
2.2.7.8. Espacio L*a*b*	25
2.2.7.9. CIE 1976 L*a*b*: Espacio de color (CIELAB)	25
2.2.8. Oxidación lipídica en los alimentos	27
2.2.8.1. Lipólisis o rancidez hidrolítica	27
2.2.8.2. Autooxidación de los lípidos	28
2.2.8.3. Fotooxidación de los lípidos	30
2.2.8.4. Oxidación lipídica catalizada por los metales	31
2.2.8.5. Enranciamiento cetónico	31
2.2.9. Antioxidantes alimentarios	31
2.2.9.1. Antioxidantes por rotura de la reacción en cadena	32
2.2.9.2. Inhibidores preventivos	33

	Pág.
2.2.10.Vida de anaquel de los productos alimentarios	33
2.2.10.1. Pruebas de envejecimiento acelerado	34
3. METODOLOGÍA	35
3.1. Obtención y preparación de la muestra	37
3.2. Desmineralización de la harina	37
3.3. Análisis bromatológico de las harinas	38
3.4. Extracción de los pigmentos carotenoides (astaxantina)	38
3.5. Cuantificación de los pigmentos carotenoides (astaxantina)	39
3.6. Identificación de los pigmentos obtenidos de la harina de cefalotórax de camarón	39
3.7. Degradación y oxidación de los pigmentos carotenoides (astaxantina) bajo diferentes condiciones de almacenamiento: temperatura, oxígeno y luz	40
3.8. Determinación del efecto antioxidante de los pigmentos carotenoides (astaxantina)	41
3.9. Determinación de la vida de anaquel de los pigmentos carotenoides (astaxantina)	41
3.10. Incorporación de los pigmentos carotenoides en un alimento: elaboración de un mousse de salmón	42
3.11. Evaluación sensorial del Mousse de salmón	43
3.12. Determinación de la vida de anaquel del mousse de salmón	43
3.13. Estudio microbiológico y evaluación sensorial del mousse de salmón durante su almacenamiento	45
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
4.1. Caracterización de la harina de cefalotórax de camarón	46
4.2. Cuantificación de los pigmentos carotenoides (astaxantina) extraídos	47
4.3. Identificación de los pigmentos carotenoides (astaxantina) obtenidos del cefalotórax de camarón	50
4.4. Efecto de las condiciones de almacenamiento (luz, oxígeno y temperatura) en la degradación de la astaxantina y oxidación lipídica de los pigmentos extraídos en el aceite de girasol	51
4.4.1. Degradación de los pigmentos carotenoides (astaxantina)	51
4.4.2. Oxidación lipídica (formación de peróxidos) en el aceite pigmentado bajo diferentes condiciones de almacenamiento	54
4.4.3. Parámetros cinéticos de la oxidación y degradación de los pigmentos carotenoides (astaxantina)	56
4.5. Efecto antioxidante de los pigmentos en el aceite de girasol	58
4.6. Vida de anaquel de los pigmentos extraídos (astaxantina) en el aceite de girasol	61
4.7. Aplicación de los pigmentos carotenoides (astaxantina) en un mousse de salmón	64
4.8. Evaluación sensorial del mousse de salmón	66
4.8.1. Características de la población estudiada	66
4.8.2. Prueba de ordenamiento: para el color	69
4.8.3. Prueba de nivel de agrado	70
4.8.4. Prueba de ordenamiento: para la preferencia del mousse de salmón	70

	Pág.
4.9. Determinación de la vida de anaquel del mousse de salmón con pigmentos carotenoides	71
4.9.1. Evaluación de los parámetros físicos y químicos del mousse de salmón con pigmentos carotenoides (humedad, acidez e hidroperóxidos)	71
4.9.2. Evaluación del color durante el almacenamiento del mousse de salmón	74
4.9.3. Parámetros sensoriales	79
4.9.4. Parámetros microbiológicos	80
4.9.5. Vida de anaquel del mousse de salmón con pigmentos carotenoides	82
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	83
5.1. Conclusiones	83
5.2. Recomendaciones	85
ANEXO 1. Análisis estadístico: Datos bromatológicos de las harinas de cefalotórax de camarón café y cristal enteras y desmineralizadas	86
ANEXO 2. Curva de calibración utilizada para el cálculo de la concentración de astaxantina extraída del cefalotórax de camarón	89
ANEXO 3. Análisis estadístico: Datos de la extracción de pigmentos carotenoides (astaxantina) del cefalotórax de camarón	89
ANEXO 4. Análisis estadístico: Modelo General Lineal (MGL) de la degradación de la astaxantina	90
ANEXO 5. Análisis estadístico: Modelo General Lineal (MGL) de la oxidación del pigmento	91
ANEXO 6. Análisis estadístico: Parámetros cinéticos de la degradación de astaxantina en el pigmento	93
ANEXO 7. Análisis estadístico: Parámetros cinéticos de la oxidación lipídica del pigmento	94
ANEXO 8. Análisis estadístico: Datos sobre el efecto antioxidante	95
ANEXO 9. Análisis estadístico: Datos sobre la aplicación del pigmento en mousse de salmón	96
ANEXO 10. Circulo cromático	99
ANEXO 11. Cuestionario utilizado para la evaluación sensorial por medio de pruebas afectivas	100
ANEXO 12. Análisis estadísticos: Análisis de varianza, andeva (ANOVA en inglés) de un factor de la prueba de nivel de agrado	101
ANEXO 13. Análisis discriminativo: Prueba triangular para datos del mousse de salmón	101
ANEXO 14. Análisis estadístico: Parámetros físicos y químicos de la vida de anaquel del mousse de salmón con pigmentos carotenoides	101
ANEXO 15. Análisis estadísticos: Datos sobre la evaluación del color durante el almacenamiento del mousse de salmón con pigmentos carotenoides	104
ANEXO 16. Análisis estadísticos: Datos sobre la evaluación del color durante el almacenamiento del mousse de salmón sin pigmentos carotenoides	107
ANEXO 17. Manejo de los residuos generados a lo largo de la experimentación	111
BIBLIOGRAFÍA	114

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1: Países productores a nivel mundial de camarón (Miles de toneladas de masa viva)	7
Tabla 2: Producción de camarón en México (en masa viva)	8
Tabla 3: Mecanismo general de auto-oxidación de los lípidos	28
Tabla 4: Especies químicas relacionadas con la iniciación de la degradación oxidativa de los lípidos	29
Tabla 5: Diseño experimental de la extracción de pigmentos carotenoides (astaxantina)	38
Tabla 6: Condiciones de almacenamiento del pigmento extraído del cefalotórax de camarón	40
Tabla 7: Diseño experimental utilizado para medir el efecto antioxidante de la astaxantina	41
Tabla 8: Diseño experimental para la determinación de la vida de anaquel de los pigmentos carotenoides extraídos del cefalotórax de camarón	42
Tabla 9: Formulaciones empleadas en porcentajes para la elaboración del mousse de salmón	43
Tabla 10: Diseño experimental para la determinación de la vida de anaquel del mousse de salmón con pigmentos carotenoides extraídos del cefalotórax de camarón	44
Tabla 11: Análisis proximal de la harina de cefalotórax de camarón café y cristal	46
Tabla 12: Concentración de los pigmentos carotenoides (astaxantina) extraídos de la harina desmineralizada del cefalotórax de camarón café y camarón cristal con un tamaño de malla de 40 y 80 μ m bajo diferentes tiempos de extracción	47
Tabla 13: Identificación del pigmento extraído del cefalotórax de camarón café por medio de cromatografía en capa fina (ccf)	51
Tabla 14: Resultados de la degradación de los pigmentos carotenoides (astaxantina) en μ g/g de harina bajo diferentes condiciones de almacenamiento	52
Tabla 15: Formación de hidroperóxidos (meq ROOH/kg) de los pigmentos extraídos bajo diferentes condiciones de almacenamiento	54
Tabla 16: Cinética de orden cero y primer orden para la degradación de los pigmentos carotenoides (astaxantina) y la oxidación lipídica de los pigmentos extraídos	57
Tabla 17: Oxidación lipídica de los pigmentos carotenoides extraídos en el aceite de girasol y del aceite de girasol sin pigmentos carotenoides adicionados	59
Tabla 18: Formación de hidroperóxidos y degradación de los pigmentos carotenoides (astaxantina) durante el almacenamiento de los pigmentos extraídos	62
Tabla 19: Vida de anaquel del pigmento con base en la degradación de los pigmentos carotenoides (astaxantina) y la formación de hidroperóxidos	62
Tabla 20: Valores CIELAB para las diferentes formulaciones de mousse de salmón	64
Tabla 21: Relación de las edades de la población analizada	66
Tabla 22: Diferencias absolutas entre suma de rangos de la prueba de ordenamiento para el atributo color	69
Tabla 23: Diferencias absolutas entre suma de rangos de la prueba de ordenamiento para la preferencia del mousse de salmón	71

	Pág.
Tabla 24: Resultados de los parámetros físicos y químicos utilizados para determinar la vida de anaquel del mousse de salmón con los pigmentos carotenoides (astaxantina)	72
Tabla 25: Cambios en los valores L*,a*,b*,C* y h° del mousse de salmón con pigmentos carotenoides durante su almacenamiento a diferentes temperaturas	75
Tabla 26: Cambios en los valores L*,a*,b*,C* y h° del mousse de salmón sin pigmentos carotenoides durante su almacenamiento a diferentes temperaturas	75
Tabla 27: Valores de Ji-cuadrada obtenidos de la prueba triangular del mousse de salmón con pigmentos carotenoides y sin pigmentos carotenoides durante el almacenamiento	79
Tabla 28: Resultados obtenidos del análisis microbiológico del mousse con pigmento (MP) y del mousse sin pigmento (MSP) durante la evaluación sensorial reporta dos como unidades formadores de colonias (UFC/g)	81
Tabla 29: Vida de anaquel del mousse de salmón con pigmentos carotenoides (astaxantina)	82

ÍNDICE DE GRÁFICAS

	Pág.
Gráfica 1: Gráficas de superficie de respuesta de la extracción de pigmentos carotenoides (astaxantina) de la harina desmineralizada de cefalotórax de camarón café y cristal	48
Gráfica 2: Interacción entre los factores: especie de camarón y tamaño de partícula	49
Gráfica 3: Efecto de la temperatura en la degradación de los pigmentos carotenoides (astaxantina)	53
Gráfica 4: Efecto de la luz en la degradación de los pigmentos carotenoides (astaxantina)	53
Gráfica 5: Efecto del oxígeno en la degradación de los pigmentos carotenoides (astaxantina)	53
Gráfica 6: Efecto de la temperatura en la oxidación lipídica del pigmento	55
Gráfica 7: Efecto de la luz en la oxidación lipídica del pigmento	56
Gráfica 8: Efecto del oxígeno en la oxidación lipídica del pigmento	56
Gráfica 9: Cuantificación de hidroperóxidos en el aceite de girasol	60
Gráfica 10: Cuantificación de hidroperóxidos del pigmento extraído del cefalotórax de camarón	60
Gráfica 11: Comparación de la formación de hidroperóxidos en el aceite de girasol y en el aceite de girasol con pigmentos carotenoides obtenidos del cefalotórax de camarón	63
Gráfica 12: Clasificación de la población analizada en cuanto a género	66
Gráfica 13: Consumo de pescados y mariscos a la semana	67
Gráfica 14: Especies que frecuentemente son consumidos (Pescado se refiere al filete de pescado)	68
Gráfica 15: Consumo de salmón de la población analizada	68
Gráfica 16: Comparación del mousse con el color del salmón: representada de mayor a menor similitud (izquierda a derecha) donde 1=1.75 %, 3=3.44 % y 4=4.27 % de pigmento utilizado en el mousse de salmón	69
Gráfica 17: Promedio del nivel de agrado de las diferentes formulaciones del salmón. Donde 2=1.75 %, 3= 3.44 %, 4= 4.27 % de pigmento utilizado en el mousse	70
Gráfica 18: Variación de la humedad durante el almacenamiento del mousse de salmón	72
Gráfica 19: Variación de la acidez durante el almacenamiento del mousse de salmón	72
Gráfica 20: Variación del índice de peróxidos durante el almacenamiento del mousse de salmón	73
Gráfica 21: Variación del valor L* del mousse con pigmento durante el almacenamiento	76
Gráfica 22: Variación del valor L* del mousse sin pigmento durante el almacenamiento	76
Gráfica 23: Variación del valor a* del mousse con pigmento durante el almacenamiento	77
Gráfica 24: Variación del valor a* del mousse sin pigmento durante el almacenamiento	77
Gráfica 25: Variación del valor b* del mousse con pigmento durante el almacenamiento	77
Gráfica 26: Variación del valor b* del mousse sin pigmento durante el almacenamiento	77
Gráfica 27: Variación del valor C* del mousse con pigmento durante el almacenamiento	78
Gráfica 28: Variación del valor C* del mousse sin pigmento durante el almacenamiento	78
Gráfica 29: Variación del valor h° del mousse con pigmento durante el almacenamiento	78
Gráfica 30: Variación del valor h° del mousse sin pigmento durante el almacenamiento	78

ÍNDICE DE IMÁGENES

	Pág.
Imagen 1: Zonas pesqueras y principales puertos pesqueros en México.	6
Imagen 2: Anatomía externa del camarón	9
Imagen 3: Estructura básica de los carotenoides	12
Imagen 4: Estructura química del licopeno	12
Imagen 5: Estructura química de algunos carotenos comunes	13
Imagen 6: Estructura química de la astaxantina	14
Imagen 7: Clasificación de los colorantes	18
Imagen 8: Experimento de la desintegración de la luz blanca en los 7 colores del espectro a su paso por un prisma	21
Imagen 9: Circulo cromático de Newton	22
Imagen 10: Efecto del brillo o valor en el color	23
Imagen 11: Efecto de la saturación en el color	24
Imagen 12: Esquema del funcionamiento de un colorímetro triestímulo	25
Imagen 13: Espacio del color CIELAB	26
Imagen 14: Pigmentos extraídos del cefalotórax de camarón café (ca) y camarón cristal (cr)	50

Esta tesis usa el punto decimal (DOF, 2009)

RESUMEN

Debido a la tendencia mundial del uso de productos naturales, existen estudios conducentes a la extracción de pigmentos a través de fuentes naturales. Uno de ellos es el que emplea la utilización de los residuos generados durante el descabezamiento del camarón en tiraderos municipales o mercados. Preocupados de esta generación de desechos, en esta investigación se utilizaron dichos residuos para extraer pigmentos carotenoides (astaxantina) provenientes de la harina desmineralizada de cefalotórax de camarón, utilizando tecnologías amigables con el ambiente. Con el objetivo de evaluar el rendimiento del pigmento, se realizó la evaluación del contenido de astaxantina de dos especies de camarón (camarón café y cristal) considerando el efecto del tiempo de extracción (15, 30, 60 minutos), del tamaño de partícula (0.150-0.177 mm malla No. 80, 0.42 mm malla No. 40), de la luz (presencia y ausencia), del oxígeno (con y sin) y, finalmente, de la temperatura (4, 25, 40°C), determinando la degradación de los pigmentos carotenoides y observándose en cuál de ellas se presentaba la mayor oxidación lipídica del pigmento durante su almacenamiento. Adicionalmente y debido a que la astaxantina presenta propiedades antioxidantes, se determinó el efecto de los pigmentos carotenoides después del tratamiento térmico al cual fue sometido, utilizándose como referencia aceite de girasol sin pigmentos carotenoides (astaxantina) como blanco, cuantificando la formación de hidroperóxidos en ambas muestras. Los pigmentos extraídos se utilizaron como colorante en un producto comercial "mousse de salmón" para recuperar la pérdida de coloración debida al enlatado y procesado del mismo, utilizando para ello diferentes concentraciones de los pigmentos extraídos (1.75, 3.44, 4.27%) en el mousse de salmón, comparándose con la coloración del salmón enlatado y del salmón fresco por medio de un colorímetro. Finalmente, para medir la aceptación del producto así como la determinación de la vida de anaquel y el efecto del almacenamiento en la variación del color se realizó una evaluación sensorial con consumidores. Entre los resultados obtenidos puede mencionarse que las mejores condiciones de extracción ($p < 0.05$) de astaxantina fueron en la harina desmineralizada de camarón café con un tamaño de partícula entre 0.150-0.177 mm (malla 80) durante 30 minutos de extracción, encontrándose que para mantener la calidad de pigmento (astaxantina) fué necesario almacenar los pigmentos al resguardo de la luz y del oxígeno a bajas temperaturas ya que estos factores aumentan la velocidad de degradación así como la oxidación lipídica del pigmento ($p < 0.05$), siendo más significativo el efecto del oxígeno que el de la luz. Los pigmentos extraídos (astaxantina) con aceite de girasol lograron proporcionar un efecto antioxidante al retardar la formación de hidroperóxidos obteniéndose valores de 1.95 meq de ROOH/kg de grasa a los 32 días de extracción en la muestra expuesta a 40°C al resguardo de la luz y el O₂, mientras que en el aceite de referencia (sin pigmentos) se obtuvieron bajo estas mismas condiciones 20 meq de ROOH/kg de grasa. La vida de anaquel obtenida al utilizar como factor de calidad la formación de hidroperóxidos resultó ser de 24 días a una temperatura de 4°C. Al incorporarse los pigmentos en el mousse de salmón se logró recuperar la pérdida de coloración debida al procesamiento del mismo, así como el enmascaramiento del sabor y olor del camarón, ya que el mousse con pigmentos carotenoides tuvo el mismo nivel de agrado por los consumidores que el mousse sin pigmentos carotenoides no identificándose diferencias estadísticas entre estos atributos por parte de ellos ($p < 0.05$). La vida de anaquel de mousse de salmón con pigmentos resultó ser de 20 días, notándose que durante el almacenamiento la variación de la coloración fue mínima, por lo que se recomienda estudiar la pérdida o degradación de la coloración en el alimento por un tiempo más largo.

1. INTRODUCCIÓN

El camarón se ubica como el principal producto marino generador de divisas para el país ocupando el segundo sitio por volumen de captura. La producción de camarón en masa (peso¹) viva durante 2010 fue de 167,015 toneladas, siendo la pesca del crustáceo en mar abierto el 22.8%, el 14.5% en esteros y bahías y, finalmente, el 62.6% producido en granjas camaroneras (SAGARPA, 2010).

De la producción total de camarón solamente el 50% aproximadamente es comestible, siendo la fracción restante el cefalotórax (mejor conocido como cabeza de camarón) el cual no se consume generando grandes volúmenes de desechos de camarón tendientes a utilizarse. Considerando la producción anual de camarón del 2010 de 167,015 toneladas en masa viva, se produjeron aproximadamente 80,000.00 toneladas de cefalotórax de camarón (ya que no toda la producción es descabezada). Siendo ésta una cantidad apreciable, el cefalotórax de camarón resulta un residuo de la industria camaronera que puede convertirse en un contaminante si no es aprovechado como materia prima. La riqueza del cefalotórax de camarón en lo que respecta a varios de sus componentes (quitina, proteína y pigmentos) representa una fuente susceptible de ser procesada para obtener subproductos útiles para las industrias alimentaria, cosmética y farmacéutica (Cañipa y Durán, 1997). Como por ejemplo, los pigmentos (astaxantina) obtenidos del cefalotórax de camarón pueden ser utilizados en la industria alimentaria como colorantes naturales incorporándose en dietas para especies acuícolas, en la alimentación avícola y/o como colorantes naturales dándole alguna propiedad funcional a los alimentos, esto es, que el colorante tenga un valor agregado debido a sus diversas propiedades como lo es ser precursor de la vitamina A y actuar como agente antioxidante.

1.1. Planteamiento del problema

México es la sexta potencia mundial en producción de camarón, siendo los estados de Sonora y Sinaloa los líderes, alcanzando en el 2010 un volumen promedio anual de

¹ *Peso versus masa*: El **peso**, en física, es la medida de la fuerza que ejerce la gravedad sobre la masa de un cuerpo. Normalmente, se considera respecto de la fuerza de gravedad terrestre. El **peso** depende de la intensidad del campo gravitatorio, de la posición relativa de los cuerpos y de la masa de los mismos. La **masa** es una propiedad característica de los cuerpos: la cantidad de materia, y no depende de la intensidad del campo gravitatorio, ni de su posición en el espacio. Por ejemplo, una persona de 60 kg de **masa**, pesa 60 **kg-fuerza** en la superficie de la Tierra; pero, la misma persona, en la superficie de la Luna pesaría sólo unos 10 kg-fuerza; sin embargo, su masa seguirá siendo de 60 kg. Las unidades de **peso** y **masa** tienen una larga historia compartida, en parte porque su diferencia no fue bien entendida cuando dichas unidades comenzaron a utilizarse. Cotidianamente, el término "peso" se utiliza a menudo **erróneamente** como sinónimo de masa. La unidad de masa del SI es el kilogramo, kg y la de fuerza el kgf

producción de 50 mil 538 toneladas (SAGARPA, 2010). No obstante, la fracción no comestible del camarón (conocida como cabeza o cefalotórax) no es aprovechada por los consumidores y es arrojada en altamar o en los puertos y tiraderos municipales, causando problemas de contaminación por la gran cantidad de sólidos en suspensión (materia orgánica). Sin embargo, el cefalotórax de camarón es un subproducto aprovechable por su alto contenido de proteína, quitina y pigmentos (Cañipa *et al.*, 1998).

Hoy en día, los consumidores saben que los alimentos naturales tienen sus propios colores; sin embargo, la mayoría de las personas viven en grandes ciudades, lejos de los lugares de producción, por lo que es necesario procesarlos y transportarlos alargando su vida de anaquel hasta llegar al consumidor final. Durante esta cadena de eventos, los alimentos pueden perder algunas de sus propiedades como su color, olor y sabor, por lo que en este trabajo se propuso partir de este subproducto (el cefalotórax de camarón) que no es utilizado en la industria pesquera o acuícola con el objetivo de extraer sus pigmentos carotenoides (astaxantina) empleando para ello aceites vegetales comestibles y poder incorporarlos en algún tipo de alimento de consumo humano (ejemplificando con un mousse de salmón). Para ello se plantearon los objetivos particulares en el marco de un objetivo general.

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. Objetivo general

Extraer la máxima cantidad de pigmentos naturales ricos en carotenoides (astaxantina) partiendo de harina de cefalotórax de dos especies de camarón *Litopenaeus vannamei* (camarón cristal) y *Farfantepenaeus azteca* (camarón café), empleando para ello aceite vegetal comestible y logrando su incorporación en un alimento de consumo humano.

1.2.2. Objetivos particulares

- ❖ Determinar en qué medida el tipo de especie, el tiempo de extracción y el tamaño de partícula de la harina contribuyen en la obtención de una mayor o menor concentración de astaxantina.
- ❖ Evaluar la degradación de la astaxantina y oxidación lipídica bajo diferentes condiciones de almacenamiento (temperatura, exposición a luz y oxígeno).

- ❖ Cuantificar el efecto antioxidante de la astaxantina empleando para ello el método de hidroperóxidos.
- ❖ Aplicar el aceite pigmentado obtenido de la harina del cefalotórax en un alimento que permita su incorporación total.
- ❖ Evaluar la aceptación del alimento al cual se le aplicará el pigmento extraído (mousse de salmón), por parte de los consumidores empleando pruebas sensoriales de preferencia y nivel de agrado.
- ❖ Establecer la vida de anaquel del alimento al cual se le aplicó el pigmento (mousse de salmón) mediante la utilización de pruebas aceleradas.

1.3. HIPÓTESIS

Si se adicionan pigmentos carotenoides (astaxantina) como aditivo en un alimento de consumo humano, mousse de salmón, se tendrá una mejora visual en el producto por el color impartido, así como una mayor vida de anaquel gracias al efecto antioxidante de sus pigmentos.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Justificación

Este proyecto de investigación es de gran relevancia porque se pretende aprovechar un subproducto de la industria camaronera que es considerado un desperdicio o desecho (cefalotórax o cabeza de camarón). Los residuos generados durante el descabezado del camarón pueden ser una fuente de recursos muy importantes debido a que el cefalotórax de camarón, tiene un alto contenido de proteína, quitina, pigmentos carotenoides (los cuales son precursores de vitamina A) y lípidos con alto contenido de ácidos grasos ω -3 (Sánchez *et al.*, 2011). De los residuos del camarón se pueden extraer los pigmentos carotenoides empleando aceites vegetales comestibles, los cuales ofrecen ventajas como son costos bajos y pueden incorporarse directamente en el alimento sin utilizar otro disolvente o medio de extracción (Chen y Meyers, 1982). Dado el contexto anterior, en este proyecto se propone dar un uso adecuado al cefalotórax de camarón, al extraer sus pigmentos y poderles conferir una mayor utilidad, no sólo en las dietas para alimentos de peces, sino para darle una aplicación en la industria alimentaria al incorporarse como aditivo alimentario en un producto (mousse de salmón), debido a que el salmón enlatado presenta una pérdida de coloración por la esterilización comercial a la cual es sometido (Kong *et al.*, 2008). Adicionalmente, al recuperarse la pérdida de coloración del producto la astaxantina podría actuar como agente antioxidante, debido a que autores como Sánchez *et al.* (2012), han reportado que la astaxantina presenta una actividad antioxidante 10 veces más alta que la de otros carotenoides como son: luteína, cantaxantina, zeaxantina y β -caroteno (por lo que esto aumentaría la vida de anaquel del producto que, al tener un alto contenido en grasas, es susceptible a la oxidación).

2.2. Antecedentes

2.2.1. La acuicultura y pesca en México

La República Mexicana cuenta con 11,592 kilómetros de costas, de las cuales 8,475 corresponden al Litoral del Pacífico y 3,117 al Golfo de México, el Mar Caribe y sus islas; la plataforma continental es de aproximadamente 394,603 km² y, además cuenta con 12,500 km² de lagunas costeras y esteros disponibles de 6,500 km² de aguas interiores, tales como lagos, lagunas, represas y ríos (SAGARPA, 2010).

En México las regiones pesqueras se han dividido en 5 grandes zonas pesqueras (Imagen 1) que incluyen los siguientes estados:

- I) Pacífico Norte: Baja California Norte, Baja California Sur, Sonora, Sinaloa y Nayarit.
- II) Pacífico Sur: Jalisco, Colima, Michoacán, Guerrero, Oaxaca y Chiapas.



Imagen 1:  Zonas pesqueras y principales puertos pesqueros en México (Anónimo, 2011)

- III) Atlántico: Tamaulipas y Veracruz.
- IV) Atlántico y Caribe: Tabasco, Campeche, Yucatán y Quintana Roo.
- V) Zona interior: Lagos, ríos y presas.

El total de la producción mundial de pescados, crustáceos y moluscos ha ido en aumento alcanzando durante 2011 los 154 millones de toneladas, mientras que la producción de la pesca de captura se ha mantenido en un nivel en torno a los 90 millones de toneladas desde el 2001. La producción acuícola ha seguido mostrando un fuerte crecimiento, aumentando a una tasa anual de crecimiento medio anual del 8.8%, esto es de 34.6 millones de toneladas en 2001 a 63.6 millones de toneladas en el 2011. El valor de la producción acuícola fue estimado en 119,400 millones de dólares en 2010 (FAO, 2012a).

Cifras de la FAO (2010) sitúan a México en el lugar 17 con 1,650,129 toneladas de la producción pesquera a nivel global, lo que representa un 1.11% del total mundial, mientras que el primer productor fue China con 52,153,182 toneladas representando el 35.12% de la misma (SAGARPA, 2010).

El camarón es la principal especie de exportación que produce México siendo el país del norte su principal destino, demandando el producto congelado y descabezado. En cuanto a las importaciones, México adquirió camarón principalmente de China, Guatemala y Honduras; resaltando que China fue su principal proveedor ya que el camarón arribó procesado, cocido, frito y empaquetado (SAGARPA, 2010).

2.2.2. Producción de camarón a nivel mundial

El camarón sigue siendo el producto más importante comercializado en términos de valor y en el año 2009 representaba el 15% del valor total de los productos pesqueros comercializados internacionalmente. Los otros grupos principales de especies exportadas fueron el salmón y truchas con cerca del 14%, seguidas por especies de fondo como son la merluza, el bacalao, el colín de Alaska y el atún (FAO, 2010). Con el propósito de identificar la situación del camarón en México a nivel mundial, en la Tabla 1 se presentan datos estadísticos de los principales países productores de camarón.

En el contexto mundial, el camarón es una de las especies más cotizadas; encontrándose México situado en la posición número 12 para la captura del crustáceo, mientras que para el cultivo de camarón se encuentra en la posición número 6.

Tabla 1: Países productores a nivel mundial de camarón (Miles de toneladas de masa viva)

País	Cultivado	Silvestre
China	1,334	2,506
Tailandia	539	591
Vietnam	411	549
Indonesia	337	576
Ecuador	179	186
México	133	63
Brasil	65	106
Estados Unidos	2	138
Canadá	NR	141
Total	3,496	6,667

Fuente: SAGARPA (2010). NR= no se ha reportado

2.2.3. Producción de camarón en México

Las principales entidades productoras de camarón se muestran en la Tabla 2, siendo los principales productores: Sinaloa y Sonora con el 35.6 y 34.9%, respectivamente, de la producción total.

Tabla 2: Producción de camarón en México (Toneladas en masa viva)

Entidad	2009	2010
Sonora	101,045	58,447
Sinaloa	55,838	59,498
Tamaulipas	11,801	16,182
Nayarit	8,645	9,114
Campeche	4,464	8,155
Baja California Sur	6,121	6,150
Veracruz	2,086	2,479
Oaxaca	1,683	1,767
Chiapas	1,842	1,724
Otras*	2,931	3,498
Total	196,456	167,015

*Baja California, Colima, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Quintana Roo y Yucatán. Fuente: SAGARPA (2010)

En las granjas camaroneras las especies que se cultivan en México son: *Litopenaeus stylirostris* (camarón azul) y *Litopenaeus vannamei* (camarón cristal) (FAO, 2010). En la pesca de altura predomina la especie *Farfantepenaeus aztecus* (camarón café) con el 55.3% de la captura en tal modalidad. De esa cifra, el 31.2% corresponde al producto descabezado (SAGARPA, 2010).

2.2.4. Características del camarón

Los camarones pertenecen a la familia de los penaidos (*Penaeidae*) y en su estado adulto viven en mar abierto, donde se reproducen y alcanzan una talla de entre los 15 y 20 centímetros de largo (Torres, 2007). Los miembros del género *Penaeus* han sido divididos en los siguientes subgéneros: *Penaeus*, *Litopenaeus*, *Farfanteenaenus*, *Fenneropenaeus* y *Melcertus* (Palacios, 2007).

2.2.4.1. Morfología externa del camarón

El cuerpo de un camarón se encuentra dividido en tres partes: 1) el cefalotórax, 2) el abdomen y 3) el telson (Imagen 2).

El cefalotórax contiene la mayoría de los órganos vitales: corazón, hepatopáncreas, branquias y gónadas. La cresta en lo alto de la cabeza y el rostrum, que en muchas especies se extiende por delante de la cabeza, son estructuras muy importantes para distinguir especies. El abdomen está dividido en seis segmentos y el último segmento termina en una estructura puntiaguda llamada telson (Palacios, 2007).

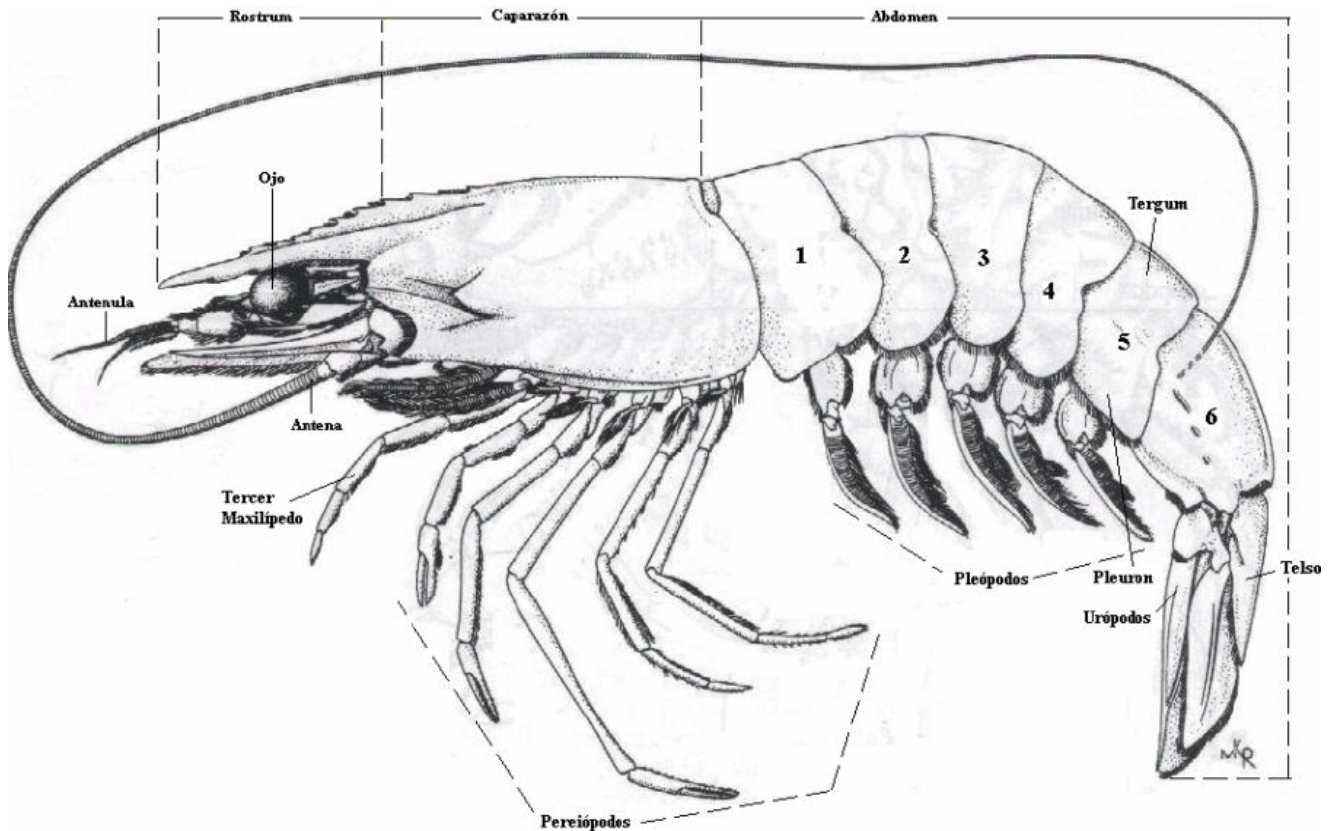


Imagen 2: Anatomía externa del camarón. Tomado de: <http://catarina.udlap.mx>

2.2.4.2. El color en el camarón

La habilidad de cambiar la coloración del cuerpo en los crustáceos se debe al movimiento de los pigmentos en los cromatóforos (células del tegumento u órganos internos que contienen pigmentos). Cuando los gránulos de los pigmentos están distribuidos por toda la extensión de los cromatóforos, éstos son más visibles dándole al cromatóforo su color característico, mientras que cuando los gránulos del pigmento se encuentran alejados de la extensión del cromatóforo no son visibles (Chang, 2011). Es debido a esta característica de los camarones que la especie *L. vannamei* (camarón blanco) es de coloración más clara que el camarón

rosado o marrón. Así mismo, la coloración de los crustáceos depende de los pigmentos carotenoides, que forman complejos carotenoproteínicos dentro de la cutícula. Los carotenoides en los crustáceos se cree que tienen diversas funciones relevantes para los procesos biológicos como son la reproducción, el crecimiento y la estabilización de proteínas (Négre *et al.*, 2000). Sin embargo, estos no son sintetizados en el camarón, por lo que tienen que ser ingeridos mediante su dieta, para lograr su pigmentación natural (Yang *et al.*, 2012), siendo esto muy importante, ya que la coloración en el cuerpo es un factor que determina la calidad y el precio del camarón (You *et al.*, 2006).

Las especies que crecen en su ambiente natural se alimentan de diversas especies de fitoplancton y zooplancton de diferentes tamaños y composición química (Robinson *et al.*, 2005); muchas de las clases de fitoplancton tienen pigmentos específicos (clorofilas y carotenos) que aportan los carotenoides que necesitan. No obstante, existe una gran variedad de factores ambientales, como por ejemplo la intensidad de la luz, su longitud de onda, la dieta y la temperatura las cuales afectan la cantidad y distribución de los compuestos carotenoides (Millán *et al.*, 2004).

2.2.4.3. Subproductos del camarón

La riqueza del cefalotórax de camarón en lo que respecta a varios de sus componentes: quitina, proteína y pigmentos carotenoides, lo convierte en una fuente susceptible de ser procesada para obtener subproductos útiles para las industrias alimentaria, cosmética y farmacéutica. De los componentes del cefalotórax de camarón los pigmentos carotenoides (astaxantina) son utilizados en la dieta para proporcionarles color a especies acuícolas y avícolas como son: Flamencos, salmones, truchas salmonada y arcoíris, ya que estas especies no pueden sintetizar *de novo* la astaxantina. Sin embargo, el interés por los carotenoides en general no sólo radica en la importancia atribuida a la coloración que proveen en la naturaleza, sino porque presentan varios beneficios a la salud como: actuar como agentes antioxidantes, ser una fuente precursora de vitamina A, así como actuar como agentes anticancerígenos debido a su capacidad de capturar radicales libres (Cañipa *et al.*, 1998; Edge *et al.*, 1997).

2.2.5. Pigmentos carotenoides

Los carotenoides son un grupo de compuestos principalmente liposolubles, responsables de muchos de los colores amarillo, naranja y rojo de frutas, tallos, flores, pescados, animales invertebrados y pájaros. También se encuentran en algas, bacterias, hongos y levaduras. Se hallan ampliamente distribuidos y existen en la naturaleza en grandes cantidades. Sólo los microorganismos y las plantas pueden sintetizar carotenoides “*de novo*”; los carotenoides en animales vienen de las dos fuentes anteriores, aunque pueden ser modificadas durante su metabolismo para ser acumuladas en sus tejidos. Se ha estimado que la naturaleza produce alrededor de 100 millones de toneladas de carotenoides anualmente. Los pigmentos naturales y sintéticos son usados en medicina, alimentos, ropa y cosméticos entre otros productos. Sin embargo, los pigmentos naturales tienen importantes funciones aparte de impartir belleza, como se puede ver a continuación: no se tendría fotosíntesis o probablemente vida en el mundo sin las clorofilas y los carotenoides, en los animales ¿cómo podría ser transportado el oxígeno y el dióxido de carbono sin la hemoglobina o mioglobina? (Delgado *et al.*, 2000; Fenneman, 1993; Rodríguez, 1997).

2.2.5.1. Estructura de los carotenoides

Los carotenoides constituyen una clase de hidrocarburos denominados carotenos y sus derivados oxigenados, las xantofilas (Fenneman, 1993). Los carotenoides presentan normalmente 40 átomos de carbono en configuraciones como las de β -caroteno, α -caroteno, γ -caroteno y licopeno (Ott, 1992). En general, los carotenoides son compuestos formados por 8 unidades de isoprenoides (ip), cuyo orden se invierte en el centro de la molécula como se aprecia en la Imagen 3 (Delgado *et al.*, 2000).

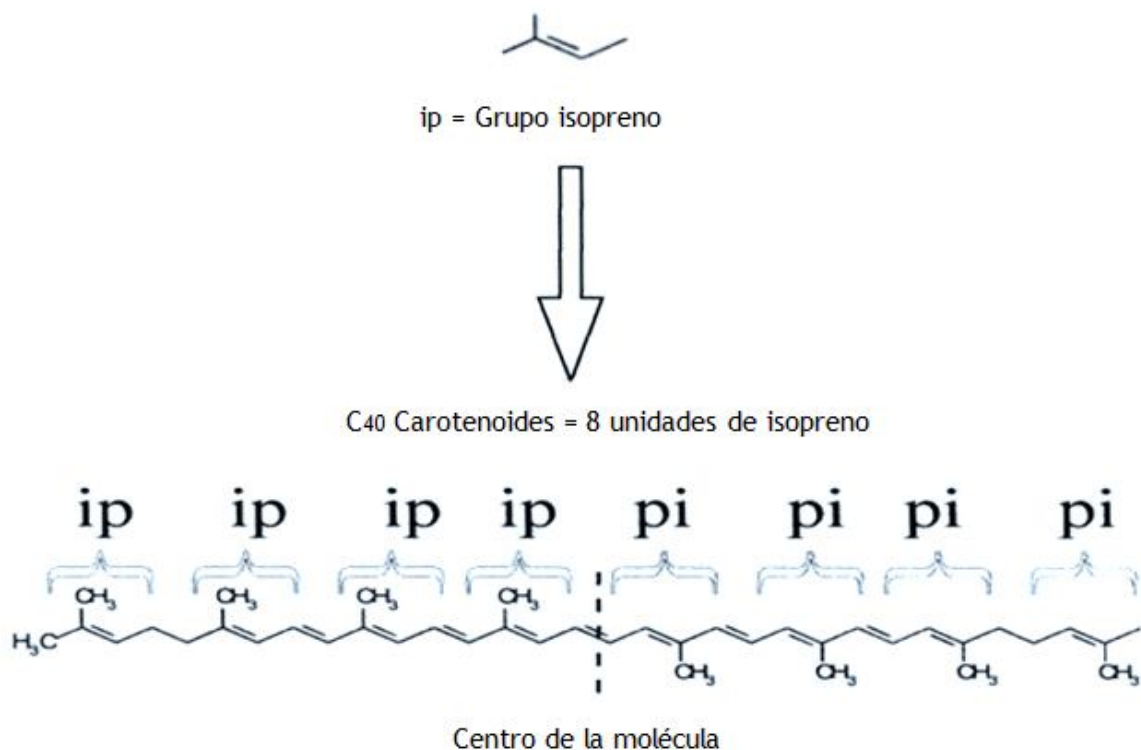


Imagen 3: Estructura básica de los carotenoides. Tomado de Delgado *et al.* (2000)

Todos los carotenoides pueden considerarse como derivados del licopeno (C₄₀H₅₆) (Imagen 4) por reacciones que implican: (1) hidrogenación, (2) deshidrogenación, (3) ciclación, (4) inserción de oxígeno, (5) migración del doble enlace, (6) migración del metilo, (7) elongación de la cadena (Delgado *et al.*, 2000). Algunas estructuras de los carotenoides se muestran en la Imagen 5.

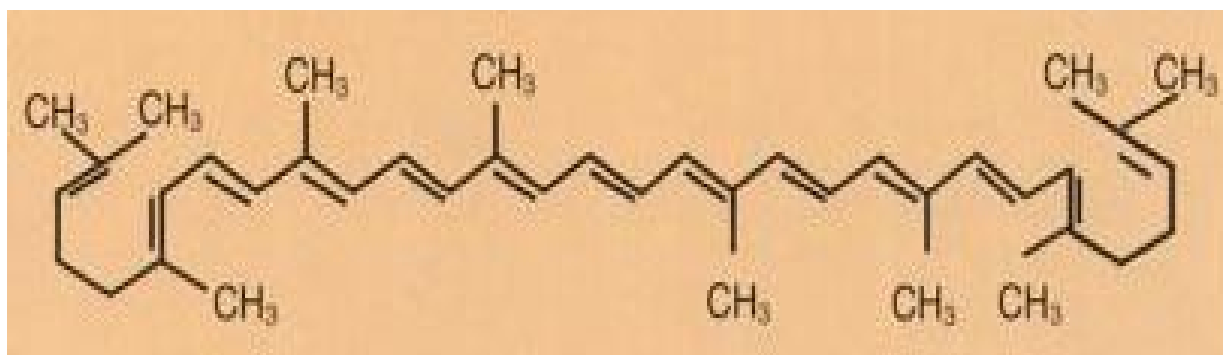


Imagen 4: Estructura química del licopeno. Tomado de: Mataix J. (2005).

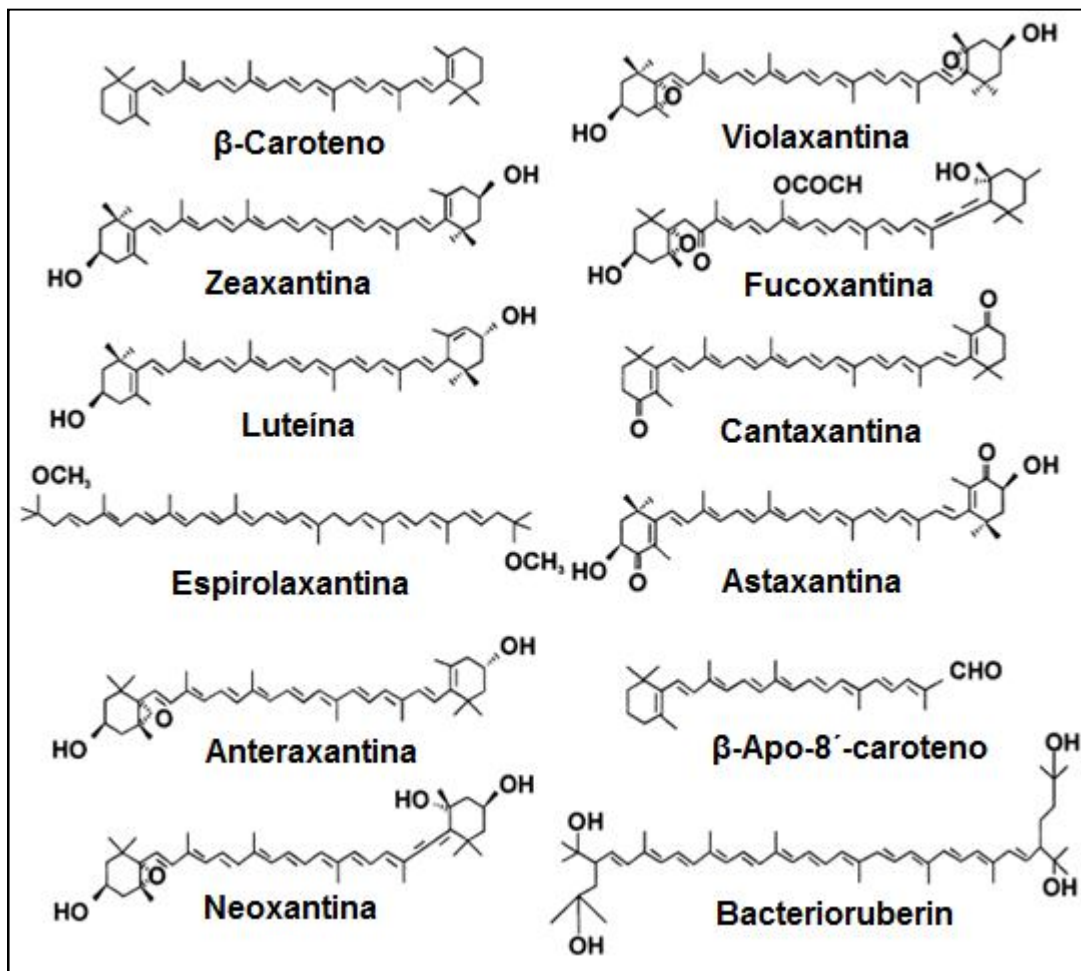


Imagen 5: Estructura química de algunos carotenos comunes (Tomado de Delgado *et al.*, 2000)

Los carotenoides pueden presentarse en forma libre en los tejidos vegetales (como cristales o sólidos amorfos) o en disolución en lípidos. También se presentan en ésteres o en combinación con azúcares y proteínas. La asociación de carotenoides con proteínas es de más reciente investigación y su conocimiento se ha desarrollado principalmente a partir del estudio de diversos invertebrados (Fennman, 1993).

2.2.5.2. Propiedades físicas y químicas de los carotenoides

La característica distintiva estructural de los carotenoides es su amplio sistema de dobles enlaces que consiste en alternar enlaces carbono-carbono dobles y sencillos, que generalmente se les refiere como polienos conjugados. Esta porción de la molécula, conocida como cromóforo, es la parte responsable de la capacidad de los carotenoides para absorber la luz en la región visible. Al menos siete dobles enlaces conjugados son

necesarios para que un carotenoide imparta color. El carotenoide fitoflueno, que en su molécula presenta sólo 5 enlaces conjugados, es incoloro (Rodríguez, 1997).

Los carotenoides son compuestos hidrofóbicos y lipofílicos. Diversos miembros de este grupo de compuestos relacionados difieren en sus características de solubilidad, ofreciendo un método apropiado para separar los carotenoides en dos grupos. Los carotenos son hidrocarburos que contienen únicamente hidrógeno y carbono y son solubles en éter de petróleo, mientras que las xantófilas son derivados oxigenados de los carotenos y son solubles en alcohol (Ott, 1992).

2.2.5.3. Astaxantina

La astaxantina es un carotenoide liposoluble de la familia de las xantofilas (Imagen 6), es el principal pigmento carotenoide encontrado en crustáceos y salmónidos proporcionándoles el color rojo-naranja deseable en estos organismos. Además de proporcionar color, una de las propiedades más importantes de la astaxantina es su actividad antioxidante (Pu *et al.*, 2010).

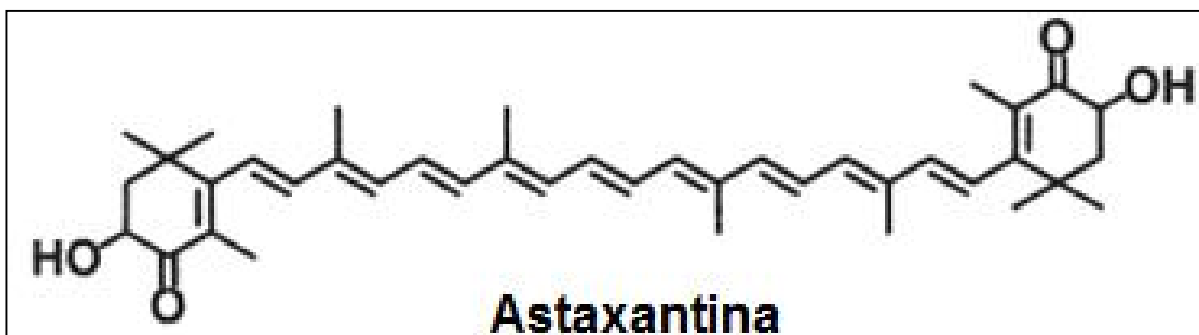


Imagen 6: Estructura química de la astaxantina. Tomado de: Jackson *et al.* (2008)

Se ha reportado que la actividad antioxidante de la astaxantina es 10 veces más alta que la de otros carotenoides como son la luteína, la cantaxantina, la zeaxantina y el β -caroteno (Sánchez *et al.*, 2012). Numerosos estudios han identificado que el mecanismo antioxidante de la astaxantina es suprimiendo especies con oxígeno activo y radicales libres *in vitro* e *in vivo*. Debido a sus propiedades antioxidantes, la astaxantina podría tener un papel en el tratamiento de enfermedades crónicas como son las cardiovasculares, en el desarrollo de cataratas, en la degeneración macular y hasta prevenir algunos tipos de cáncer (Pu *et al.*, 2010).

La astaxantina tiene importantes aplicaciones en las industrias farmacéuticas, cosméticas, alimentarias y como fuente de pigmentación en la acuicultura, siendo este último su principal mercado. Aunque más del 95% de la astaxantina utilizada en la acuicultura se suministra por vía sintética, existe una creciente demanda por el uso de productos naturales (Sánchez *et al.*, 2012). Por consiguiente, muchas investigaciones conducen a la optimización de la producción de astaxantina de fuentes naturales. Una de ellas es mediante la utilización de los residuos generados en el descabezamiento del camarón. La recuperación de estos valiosos componentes no sólo mejoraría la economía de los procesadores de camarón, sino que también reduciría al mínimo el potencial de contaminación de los residuos (Sachindra y Mahendrakar, 2005). Diferentes métodos se han utilizado para extraer astaxantina como son: la fermentación, vía enzimática y mediante solventes orgánicos (Pu *et al.*, 2010). Las metodologías en las que se emplean solventes orgánicos para la extracción de astaxantina, generalmente presentan desventajas debido a que disminuyen la estabilidad de los carotenoides además de requerirse grandes cantidades de solventes que contaminan el ambiente, por lo que se encuentran en desarrollo procedimientos de extracción alternativos como son la utilización de dióxido de carbono supercrítico con o sin etanol como cosolvente y la extracción con aceites vegetales (Correa *et al.*, 2012; Sachindra y Mahendrakar, 2005).

2.2.6. Aditivos alimentarios

De acuerdo con el Codex Alimentarius de 1988 (CODEX STAN, 2012), un aditivo es aquella sustancia que se añade de manera intencional a los alimentos, por lo general en pequeñas cantidades con el objetivo de mejorar su apariencia, sabor, color, ayudar a su preservación, etc. A nivel nacional, de acuerdo con la definición utilizada por la Secretaría de Salud, los aditivos son aquellas sustancias que se añaden a los alimentos y bebidas con el objeto de proporcionar o intensificar el aroma, color o sabor, prevenir cambios indeseables o modificar en general su aspecto físico. Queda prohibido su uso para ocultar defectos de calidad (García *et al.*, 2004).

El uso de aditivos alimentarios está justificado únicamente si ello ofrece alguna ventaja, no presenta riesgos apreciables para la salud de los consumidores, no induce a error a éstos y cumple una o más de las funciones tecnológicas establecidas por el Codex y los requisitos que se indican a continuación y únicamente cuando estos fines no puedan alcanzarse por otros medios que son factibles económica y tecnológicamente:

- a) Conservar la calidad nutricional del alimento; una disminución intencionada en la calidad nutricional de un alimento estaría justificada en las circunstancias indicadas en el párrafo b) y también en otras circunstancias en las que el alimento no constituye un componente importante de una dieta normal;
- b) Proporcionar los ingredientes o constituyentes necesarios para los alimentos fabricados para grupos de consumidores que tienen necesidades dietéticas especiales;
- c) Aumentar la calidad de conservación o la estabilidad de un alimento o mejorar sus propiedades organolépticas, a condición de que ello no altere la naturaleza, sustancia o calidad del alimento de forma que engañe al consumidor;
- d) Proporcionar ayuda en la fabricación, elaboración, preparación, tratamiento, envasado, transporte o almacenamiento del alimento, a condición de que el aditivo no se utilice para encubrir los efectos del empleo de materias primas defectuosas o de prácticas (incluidas las no higiénicas) o técnicas indeseables durante el curso de cualquiera de estas operaciones (CODEX STAN, 2012).

2.2.6.1. Uso y clasificación de los colorantes alimenticios

El color es el primer atributo que se percibe de un alimento y determina el primer juicio sobre su calidad, ya que tiende a veces a modificar subjetivamente otras sensaciones como el sabor y el olor, condicionando el éxito o fracaso de un producto en el mercado (Cubero *et al.*, 2002).

El término colorante es una designación general que se refiere a cualquier compuesto químico que imparte color. Mientras que la palabra pigmento se refiere a los constituyentes normales de las células o tejidos que imparten color. Los pigmentos pueden tener propiedades que van más allá de los colorantes, por ejemplo, como receptores de energía, transportadores de oxígeno o protectores contra las radiaciones (Fennema, 1993).

De igual manera que la FDA, en México, la Norma Oficial Mexicana 118, trata de englobar tanto la fuente de procedencia del colorante como las partes donde puede ser aplicado, caracterizándolo como: material que imparte color a otro material o mezcla, elaborado por un

proceso de síntesis o similar; por extracción o por separación, obtenida de una fuente animal, vegetal o mineral y que posteriormente se someta a pruebas fehacientes de seguridad que lo liberan para su aplicación en alimentos y en productos de perfumería y belleza o en alguna parte de ellos y que directamente o a través de su reacción con otras sustancias sean capaces de impartir el color que le caracteriza. Los colorantes tienen un uso limitado ya que no se deben emplear de una manera arbitraria, sino que la cantidad en cada alimento debe atender a la corrección de la pérdida de color producida por alguno de los siguientes problemas que se puedan presentar durante el proceso de fabricación o almacenamiento de un alimento (Cubero *et al.*, 2002):

- ☆ Pérdida de color por tratamientos tecnológicos del proceso: tratamientos térmicos, pelados, desecaciones, entre otros.
- ☆ Variaciones físico-químicas: cambios de pH, luz, potencial redox.
- ☆ Efectos bioquímicos: microorganismos y sus metabolitos, pardeamiento enzimático y no enzimático.

Desde 1900 se inició un control cada vez más completo en el uso de estos y otros aditivos. En EEUU los colorantes admitidos se dividen en dos grupos (ver Imagen 7): 1) certificados, los cuales son todos de origen sintético y 2) sin certificar, los cuales son todos naturales y algunos que se consideran sintéticos son correspondientes a las estructuras químicas que se encuentran en la naturaleza, como por ejemplo, la compañía SIGMA-ALDRICH la cual produce astaxantina de manera sintética para uso alimentario. La clase más importante exenta de certificación es la de los carotenoides.

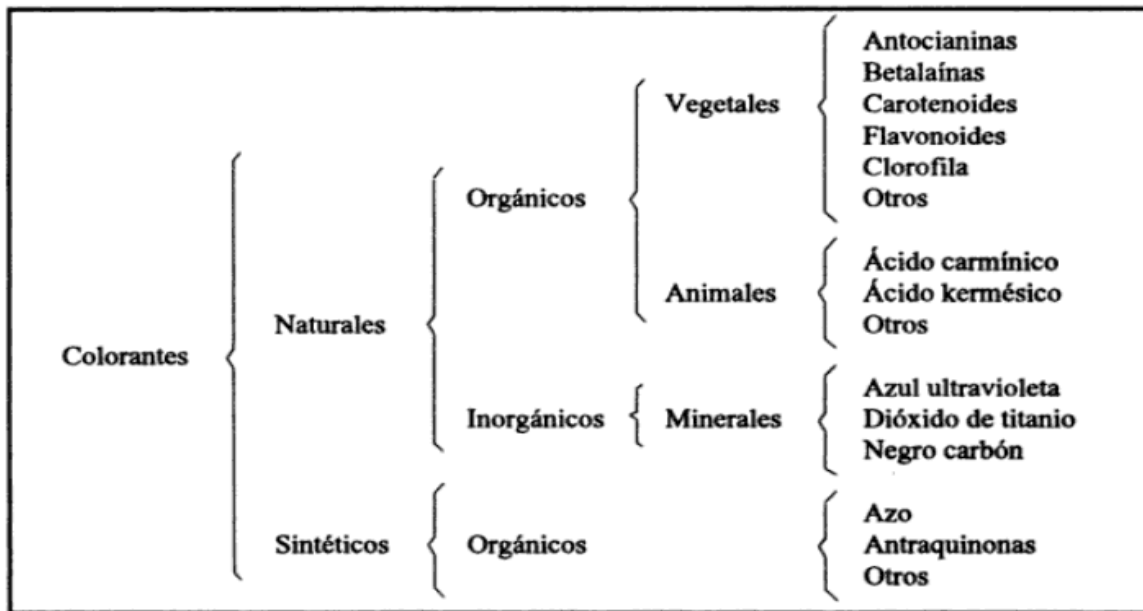


Imagen 7: Clasificación de los colorantes. Tomada de García et al., 2004

Los colorantes también se pueden clasificar atendiendo a la composición química:

1) Colorantes orgánicos naturales

- Derivados isoprénicos: Carotenoides y Xantofilas.
- Derivados del benzopireno: Antocianinas y Flavonoides.
- Derivados de hidratos de carbono: Caramelos.
- Derivados tetrapirrólicos: Clorofilas
- Otras estructuras.

2) Colorantes orgánicos sintéticos

- Derivados de alquitrán de hulla.

3) Colorantes inorgánicos

- Pigmentos y lacas.

Los colorantes derivados isoprénicos (carotenoides y xantofilas), son fundamentalmente productos naturales y como tales, en principio se consideran exentos de toxicidad. Para ellos no se ha definido una ingesta diaria admisible, IDA, y de igual modo se incluyen como sustancias generalmente reconocidas como seguras (*GRAS, Generally Recognized as Safe*) (Olea et al., 2012).

2.2.6.2. Tendencia mundial de los colorantes alimenticios

En el 2009 el mercado global de colorantes alimenticios obtuvo un valor aproximado de unos 1.45 billones de dólares, según “The Global Market for Good Colors”, en el informe mercantil publicado por Leatherhead Food Research en agosto de 2010. Actualmente se consumen entre 40,000 y 50,000 toneladas de colorantes alimenticios mundialmente y, aunque las condiciones económicas actuales han limitado el crecimiento anual del mercado, el informe predice que a mediados de la década el valor del mercado mundial aumentará a 1.6 billones de dólares, un crecimiento de 10% del valor actual. Se anticipa que el crecimiento futuro del mercado provendrá de los colorantes naturales.

Los alimentos constituyen el 67% del mercado mundial de colorantes alimenticios; seguido por bebidas gasificadas con un 28% y bebidas alcohólicas con un 5%. Europa domina el mercado global con 36% , seguido por el mercado estadounidense (28%), Japón (10%) y China (8%); el 18% restante proviene de países desarrollados como Canadá y Australia y de nuevos mercados alimenticios como los de India y Brasil (Dziuk, 2011).

2.2.7. Evaluación del color en los alimentos

El color es uno de los principales parámetros que el consumidor evalúa y utiliza como indicador para la aceptación o rechazo de los alimentos. La evaluación del color en los alimentos puede realizarse mediante el sistema visual de los humanos o por medio de instrumentos de medición del color. El sistema visual implica la comparación con colores de referencia bajo iluminación controlada. En este método para llevar un análisis de color más objetivo, se utilizan colores estándares como material de referencia. Desafortunadamente, esto implica una inspección lenta y requiere de un entrenamiento más especializado de los observadores. Por esta razón es recomendable determinar el color a través del uso de la instrumentación para la medición del color. Los colorímetros como son el Minolta chroma meter, el colorímetro Hunterlab y el colorímetro Dr. Lange, son algunos de los instrumentos más utilizados para tal medición (Afshari y Farahnaky, 2011). La medición objetiva del color es una técnica no destructiva y muy rápida que permite al analista obtener una serie de parámetros en unos pocos segundos, siendo una herramienta muy útil para el control de calidad de los carotenoides en la industria alimentaria (Meléndez *et al.*, 2006).

El color en la mayoría de los alimentos es la combinación de los parámetros absorción y dispersión. Esto hace que la medición del color sea un tanto empírica, pero afortunadamente es reproducible y además se puede interpretar adecuadamente (Alvarado y Aguilera, 2001).

2.2.7.1. Definición de color

El término color puede tener distintos significados: los físicos lo aplican a determinadas distribuciones espectrales de las luces, emitidas por fuentes, reflejadas o transmitidas por objetos. Los químicos utilizan la palabra color para realizar diferencias espectrales debidas a variaciones en la composición molecular de los compuestos químicos. En psicología el color es un aspecto de la respuesta del cerebro humano a la percepción de un estímulo visual. En el lenguaje común el color se entiende como la coloración de objetos, que puede hacer diferenciar dos objetos iguales por la sola variación de su color, el mismo objeto debe tener siempre el mismo color, así decimos rojo sangre o verde césped (Valero, 2001).

Los colores que percibe el ser humano en un objeto están determinados por la naturaleza de la luz reflejada del objeto. El color del objeto no sólo depende del objeto en sí, sino de la fuente de luz que lo ilumina, del color del área que lo rodea y del sistema visual humano (el mecanismo ojo-cerebro).

2.2.7.2. Fundamento químico del color

Cuando las ondas electromagnéticas (fotones) chocan con una superficie, la energía de los fotones interactúa con los electrones de la última capa de los átomos que constituyen dicha superficie. Dependiendo del tipo de superficie puede haber parte de las ondas electromagnéticas que sean absorbidas, otras refractadas, ambas no se devuelven al medio de donde vinieron; y otras reflejadas, que se devuelven al medio de donde vinieron y son responsables del color. En este caso la energía lumínica que llega a los electrones de la última capa de los átomos les hace vibrar (oscilar) entre dos niveles de energía: excitado, no excitado. El paso del nivel excitado al no excitado se consigue por la emisión de un fotón, o sea una onda electromagnética que si es visible tendrá un color del espectro visible (Valero, 2001).

4.2.7.3 Principio de las teorías del color

En el siglo XVII, el gran físico y matemático Isaac Newton realizó una serie de experimentos y demostró, entre otras cosas, que la luz solar contiene todos los colores del arco iris. Hizo penetrar en una estancia oscura un rayo de sol a través de un orificio en la cortina de una ventana y colocó un prisma de cristal por donde pasaría el rayo. Al salir por el otro lado, el rayo de luz blanca se dispersa en varios colores conformando un espectro (Imagen 8) (Zelanski *et al.*, 2001). Mediante este experimento Isaac Newton desarrolló la teoría corpuscular de la luz, la descomposición de la misma y demostró su teoría de los colores.

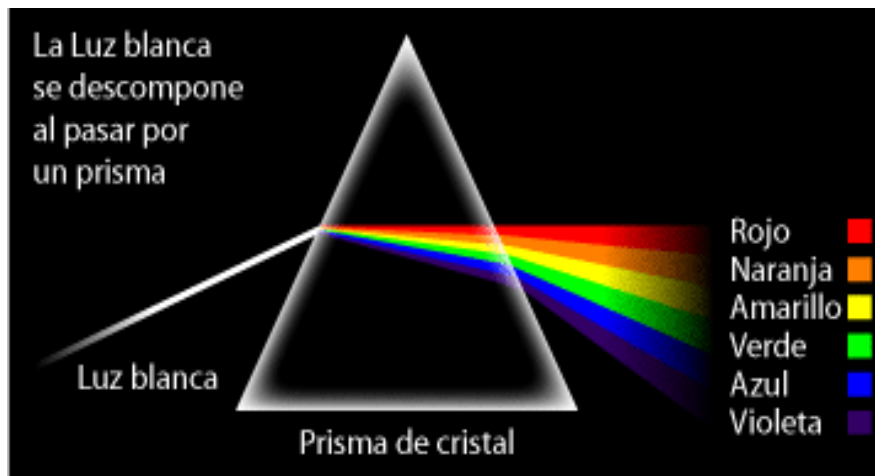


Imagen 8: Experimento de la desintegración de la luz blanca en los 7 colores del espectro a su paso por un prisma (Valero, 2001)

Si se descompone la luz blanca, separando las radiaciones en las distintas longitudes de onda que la componen (debido a sus distintos ángulos de refracción al atravesar un prisma), se obtiene una proyección del espectro visible en el cual se aprecian las bandas violeta, azul, verde, amarilla, naranja y roja.

Para explicar la percepción del color Newton construyó un círculo de manera que el rectángulo del espectro se desplegara en abanico juntándose por sus extremos el rojo con el violeta, que desde entonces se llamó círculo cromático de Newton (Imagen 9).

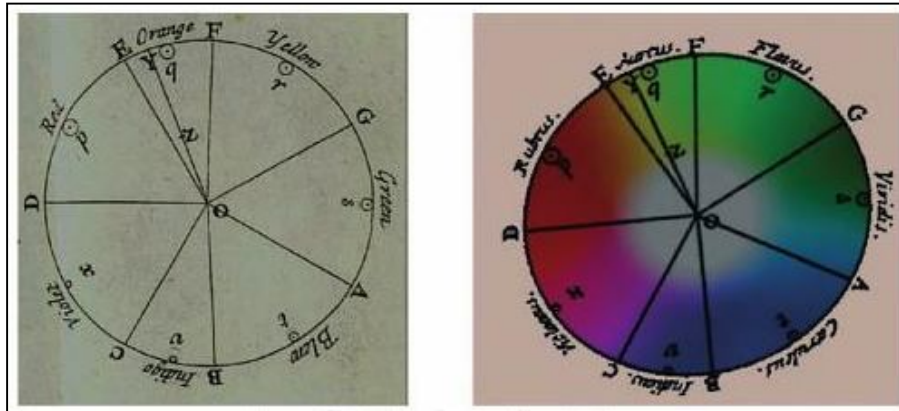


Imagen 9: Circulo cromático de Newton (Valero, 2001)

En el centro del círculo se halla el blanco, en la circunferencia, se hallan los matices más saturados, en gradación desde el blanco (saturación nula) hasta el color espectral (saturación máxima). Newton fue el primero en tener la intuición de que las relaciones entre los estímulos luminosos y la percepción del color se podrían representar con un modelo matemático. Sin embargo, sería el físico alemán Grassmann quien, con sus leyes sobre la síntesis de color, sistematizaría en 1853 fisiológica y físicamente la tricromaticidad, consistente en la especificación (igualación) de cualquier color o estímulo cromático únicamente con tres variables independientes correspondientes a cada color primario (Valero, 2001).

2.2.7.4. La percepción del color

La percepción del color depende, en primer lugar, del tipo de frecuencias luminosas que llegan al ojo, en segundo lugar, de los tres tipos de conos con respuestas frecuenciales diferentes y que tienen máxima sensibilidad a los colores que forman la terna *RGB* (*red*, *green*, *blue*, rojo, verde y azul, por sus nombres en inglés). El color percibido es el que la mente deduce conscientemente a partir de las sensaciones integradas por el cerebro, procedentes y comunicadas por el ojo. Así, se estudia el color percibido en su aspecto psicosensoorial o perceptivo describiéndolo por sus atributos y nombres propios: rojo, verde, naranja, gris, etc. así como por combinaciones de estos colores. En 1905, Albert H. Münsell formuló un sistema de ordenación del color basado en la percepción humana. Los seres humanos perciben el color a través de ondas luminosas que poseen varios atributos, o sea, características distintivas de una sensación, percepción o modo de apariencia. Münsell identificó tres atributos, en inglés: *hue* (tonalidad o matiz), *saturation* (saturación) y *value* (luminosidad) (Valero, 2001).

2.2.7.5. Atributos del color percibido

Los colores tienen unas propiedades inherentes que les permite distinguirse unos de otros, que les hacen variar de aspecto y que define su apariencia final. También se les llaman: dimensiones, parámetros o variables de color. La percepción del color puede ser descompuesta en tres atributos fundamentales, o dimensiones:

a) Tono (en inglés *hue*), la tonalidad, matiz, tinte: Atributo de la sensación visual de color según la cual una superficie parece similar a uno, o proporciones de dos, de los colores percibidos: amarillo, naranja, rojo, verde, azul y púrpura. El tono se refiere al tipo de longitud de onda reflejada o frecuencia de las ondas electromagnéticas de cada color.

b) Brillo (en inglés *brightness*) / valor o luminosidad (*value*):

Brillo: Propiedad o atributo de una sensación visual según la cual una superficie parece emitir más o menos luz como se observa en la Imagen 10 (Valero, 2001).

Valor o luminosidad: es el grado de claridad u oscuridad de un color o matiz. Se puede variar añadiendo un matiz más claro del mismo color o blanco (Zelanski *et al.*, 2001).

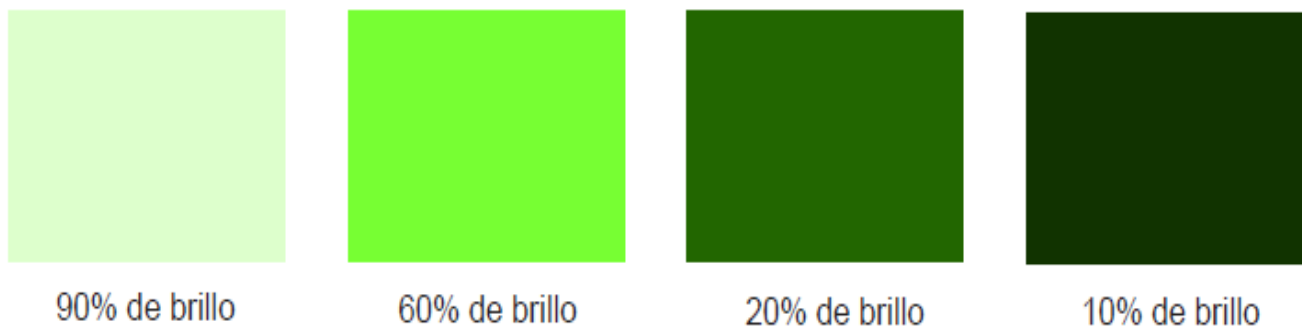


Imagen 10: Efecto del brillo o valor al color. Tomada de: <http://cei.es/wpcontent/uploads/manuales/grafico/teoria/Color.pdf>

c) Saturación o croma: Es una medida de la pureza o intensidad relativa de un color (Zelanski *et al.*, 2001). Cualquier cambio hecho a un color puro automáticamente baja su saturación como se observa en la Imagen 11 (Valero, 2001).



Imagen 11: Efecto de la saturación en el color. Tomada de: <http://cei.es/w/wpcontent/uploads/manuales/grafico/teoria/Color.pdf>

2.2.7.6. Colorimetría

La Sociedad de Óptica de los Estados Unidos define a la colorimetría como la “ciencia de la medición del color, su luminosidad y cromaticidad”; es decir, estudia los colores para caracterizarlos y cuantificarlos mediante números (Valero, 2001). Dicha caracterización debe tener un sentido perceptual, esto es, los números que se asignan a un color deben en última instancia describir el color percibido. La percepción del color de un objeto no depende sólo de la luz que llega al ojo procedente del propio objeto (producto de la reflectancia por el iluminante), sino que, en general, depende de la luz que se recibe del objeto y de su entorno. Así pues, se tiene un problema nada trivial, hasta el punto que en este momento no existe todavía ningún modelo que sea capaz de describir el color con el que se percibe un objeto en cualquiera de las condiciones de observación. Los denominados modelos de apariencia del color y el año en que fueron desarrollados, CIECAM97s, en 1998; Hunt en 1991 y 1994; LLAB en 1996; Nayatani en 1991 y 1995; RLAB en 1993 y 1996, intentan abordar esta tarea con un relativo éxito (Artigas *et al.*, 2002).

2.2.7.7. Valores triestímulo

La forma más elemental de medir el color y utilizada hoy en día, es por comparación de un color con otro usado como control. Es lo que se conoce como igualación de colores o en inglés como “*color matching*”. Una vez encontrada la combinación de luces primarias que producen una igualación de color exacta de las dos partes del disco (Imagen 12), se dice que se está en condiciones de especificar las cantidades de primarios que se necesitan para medir el color, conocidos como valores triestímulo.

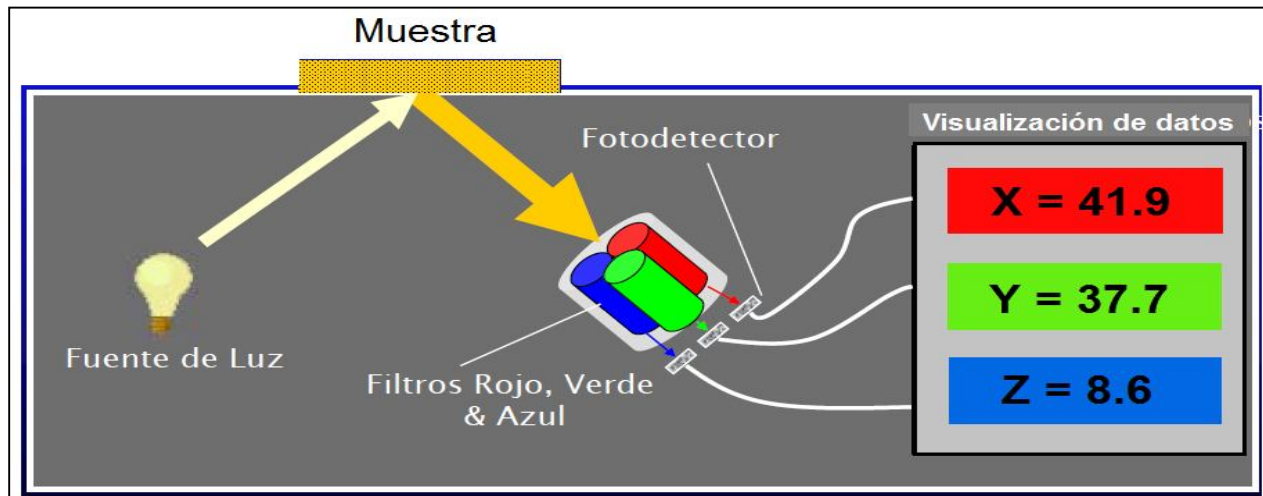


Imagen 12: Esquema del funcionamiento de un colorímetro triestímulo. Tomado de: HunterLab, 2011

2.2.7.8. Espacio $L^*a^*b^*$

Dado que una especificación numérica de las diferencias entre dos colores es muy útil en la práctica, en 1970 la CIE (*Commission Internationale de l'Eclairage*) planteó la construcción de un espacio de color uniforme conducente a una serie de transformaciones no lineales del espacio denominado "CIE XYZ 1931", conocido en la actualidad como espacio de color $L^*a^*b^*$ el cual, es el nombre abreviado de dos espacios de color diferentes. El más ampliamente usado es el denominado espacio CIELAB (CIE 1976 $L^*a^*b^*$) y el otro es el HunterLab. Ambos espacios se derivan del espacio "CIE 1931 XYZ". El CIELAB se calcula usando raíces cúbicas, mientras que el HunterLab se calcula usando raíces cuadradas, por lo que es recomendable utilizar el espacio CIELAB para nuevas aplicaciones, excepto donde los datos deban compararse con los valores HunterLab existentes.

2.2.7.9. CIE 1976 $L^*a^*b^*$. Espacio de color (CIELAB)

El espacio CIE $L^*a^*b^*$ (CIELAB) es el modelo cromático (Imagen 13) usado generalmente para describir todos los colores que puede percibir el ojo humano (Valero, 2001). Los parámetros del modelo CIELAB se encuentran representados por medio de las siguientes siglas:

- ☆ L^* que significa *lightness* en inglés (claridad, brillo o valor), siendo el color blanco considerado como el 100% y el color negro considerado como el 0%.

- ☆ a^* ; es indicativo de las tonalidades Rojo/Verde, en donde los valores positivos indican en la escala una coloración más roja que verde y los valores negativos indican una coloración más verde que roja.
- ☆ b^* ; Indica la tonalidad amarillo/azul. De igual manera, los valores positivos indican que el producto es más amarillo que azul, mientras que los valores negativos indican que es más azul que amarillo.

Al utilizar una transformación trigonométrica ($\tan^{-1} b^*/a^*$), se puede calcular el ángulo del tono (h°) el cual es conocido como *hue angle* por sus siglas en inglés, que se encuentra relacionado con el nombre del color, de manera que el rojo tienen una tonalidad de ángulo de 0° , el naranja de 45° , el amarillo de 90° , el verde de 180° , el azul de 270° y, finalmente, el púrpura de 315° . Mientras que croma (C^*) ($\sqrt{a^{*2}+b^{*2}}$) es una indicativo de la saturación o brillo ya que entre más grande sea el número asignado más brillo presentará el color medido (Shewfelt, 2009).

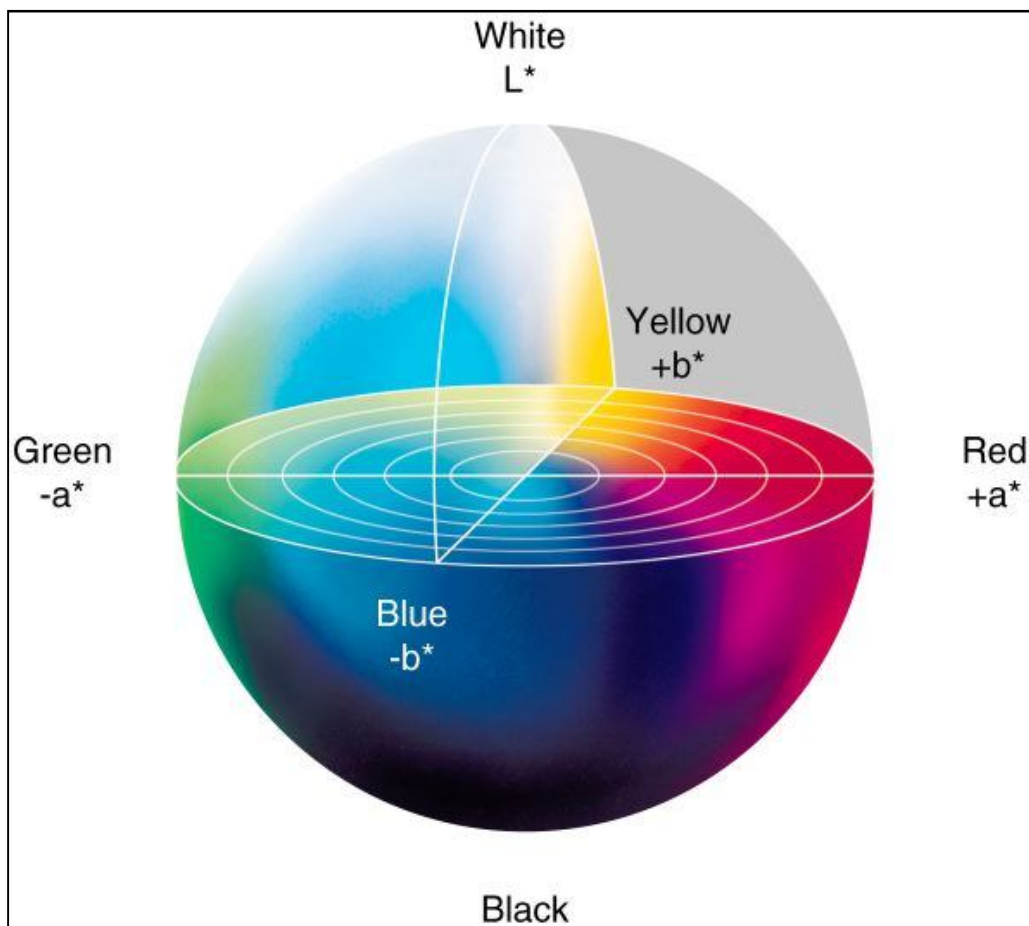


Imagen 13: Espacio de color CIELAB. Tomado de: Mozas (2012)

2.2.8. Oxidación lipídica en los alimentos

Cuando los lípidos comienzan a oxidarse se inicia la formación de hidroperóxidos, los cuales a su vez son susceptibles a la oxidación o descomposición adicional generándose los productos de reacción secundarios tales como son: aldehídos, cetonas, ácidos y alcoholes. En muchos casos, estos compuestos afectan negativamente el *flavor*², aroma, sabor, valor nutricional y muchas otras cualidades de los alimentos. Los principales sustratos de estas reacciones son los ácidos grasos insaturados, que en estado libre se oxidan a mayor velocidad que cuando toman parte de las estructuras de los triacilgliceroles o de los fosfolípidos. La presencia de sustancias pro-oxidantes explican el diverso comportamiento con respecto a la oxidación de los lípidos observado en los diferentes alimentos (Bello, 2000). Existen muchos sistemas catalíticos que pueden oxidar los lípidos. Entre estos se encuentra la luz, la temperatura, las enzimas, los metales, las metaloproteínas y los microorganismos. Muchas de estas reacciones involucran algunos tipos de radicales libres y/o especies de oxígeno (Angelo, 1992).

El término rancidez se usa para describir los diferentes mecanismos a través de los cuales se alteran los lípidos, dividiéndose en dos grupos: lipólisis o rancidez hidrolítica y la autooxidación o rancidez oxidativa. La primera se debe básicamente a la acción de las lipasas que liberan a los ácidos grasos de los triacilglicéridos, mientras que la segunda se refiere a la acción del oxígeno y de las lipoxigenasas sobre las insaturaciones de los ácidos grasos (Baduí, 1993).

2.2.8.1. Lipólisis o rancidez hidrolítica

Es un proceso que consiste en el desdoblamiento de los enlaces ésteres entre los grupos hidroxilo del glicerol y los ácidos grasos, característico de los triacilgliceroles. Se trata de un fenómeno hidrolítico reversible, cuya reacción puede ser catalizada por ácidos, temperaturas elevadas o las enzimas lipasas. Precisamente las lipasas se encuentran muy difundidas en los tejidos animales y vegetales y también en los microorganismos. Las enzimas lipolíticas corresponden a dos grupos con actividades diferentes: lipasas, que son triacilglicerol acil hidrolasas y fosfolipasas: que son fosfoglicerol acil hidrolasas (Bello, 2000).

² En 1975, la *British Standard Institution* definió esta variable "*flavor*" como una combinación de sabor y olor, que puede ser influida por otras sensaciones de tacto, calor, frío y presión (Bello, 2000)

2.2.8.2. Autooxidación de los lípidos

Esta transformación es una de las reacciones más comunes e importantes de los alimentos que contienen grasas y otras sustancias insaturadas. Consiste principalmente de la oxidación de los ácidos grasos con dobles ligaduras. Recibe el nombre de auto-oxidación pues es un mecanismo que genera compuestos que a su vez mantienen y aceleran la reacción (Baduí, 1993). Las reacciones de autooxidación habitualmente presentan un período de inducción, durante el cual se producen cambios muy pequeños en los lípidos. Tras el periodo de inducción, el deterioro oxidativo se produce mucho más rápidamente. El periodo de inducción (PI) es muy sensible a pequeñas concentraciones de componentes capaces de acortarlos los cuales son denominados como pro-oxidantes, o de alargarlo, como serían los antioxidantes. Los pro-oxidantes más importantes en los alimentos son los iones metálicos, mientras que los antioxidantes incluyen compuestos que actúan como absorbedores de radicales libres y como agentes quelantes de metales pro-oxidantes. La presencia de un período de inducción es característica de aquellas reacciones químicas en las que intervienen radicales libres (Pokorny *et al.*, 2001). Al ser una reacción en la que intervienen radicales libres, la auto-oxidación se desarrolla a través de una serie de pasos. Los más importantes son los conducentes a los mecanismos de oxidación de los ácidos grasos poli-insaturados como se muestra en la Tabla 3. En ella se aprecia que las reacciones pueden ser divididas en 3 fases: Iniciación, propagación, terminación (Ragnarsson y Labuza, 1976).

Tabla 3: Mecanismo general de auto-oxidación de los lípidos

Iniciación	$X^{\bullet} + RH \rightarrow R^{\bullet} + XH$
Propagación	$R^{\bullet} + O_2 \rightarrow ROO^{\bullet}$
	$ROO^{\bullet} + RH \rightarrow ROOH + R^{\bullet}$
Terminación	$ROO^{\bullet} + ROO^{\bullet} \rightarrow ROOR + O_2$
	$ROO^{\bullet} + R^{\bullet} \rightarrow ROOR$
	$R^{\bullet} + R^{\bullet} \rightarrow RR$
Iniciación secundaria	$ROOH \rightarrow RO^{\bullet} + \cdot OH$
	$2ROOH \rightarrow RO^{\bullet} + ROO^{\bullet} + H_2O$
Iniciación catalizada por metales	$M^{n+} + ROOH \rightarrow RO^{\bullet} + \cdot OH + M^{(n+1)+}$
	$M^{(n+1)+} + ROOH \rightarrow ROO^{\bullet} + H^+ + M^{(n)+}$

Donde: X^{\bullet} = Radical libre, RH = sustrato (lípido), R^{\bullet} = sustrato radical, RO^{\bullet} = grupo alcoxi, ROO^{\bullet} = Radical lípido peroxidado, ROOH = lípido hidroperoxidado y M = metal. Tomado de Pokorny *et al.* (2001)

La degradación oxidativa de los lípidos en los alimentos puede iniciarse a partir del oxígeno no activo, de algunas especies no relacionadas más activas que las moléculas de oxígeno

triplete presente en el aire y de agentes exógenos como la radiación UV, la radiación ionizante o el calor (Pokorny *et al.*, 2001) (Tabla 4).

Tabla 4: Especies químicas relacionadas con la iniciación de la degradación oxidativa de los lípidos

Radicales	No radicales
$\cdot\text{O}_2^-$ superóxido	H_2O_2 peróxido de hidrógeno
$\text{HO}\cdot$ radical hidroxilo	$^1\text{O}_2$ oxígeno singulete
$\text{HO}_2\cdot$ radical peroxilo	O_3 Ozono
$\text{L}\cdot$ radical lipídico	LOOH hidroperóxido lipídico
$\text{LO}_2\cdot$ radical lipídico peroxilo	Fe = O complejos hierro oxígeno
$\text{LO}\cdot$ radical lipídico alcoxilo	$\cdot\text{OCl}$ hipoclorito
$\text{NO}_2\cdot$ dióxido de nitrógeno	
$\cdot\text{NO}$ óxido nítrico	
$\text{RS}\cdot$ radical tiilo	
$\text{P}\cdot$ radical proteico	

Tomado de Pokorny *et al.* (2001)

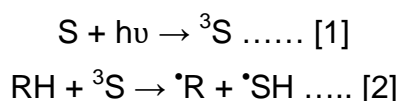
La iniciación secundaria es ocasionada por la rotura homolítica de los hidroperóxidos, siendo una reacción de relativamente baja energía y representa normalmente la principal reacción de iniciación de la oxidación en aceites comestibles. La reacción se encuentra frecuentemente catalizada por iones metálicos (Pokorny *et al.*, 2001). Durante la fase de propagación el radical formado durante la fase de iniciación reacciona rápidamente con el oxígeno triplete formándose el radical lipídico peroxilo, el cual abstrae un átomo de hidrógeno de otro lípido insaturado formando hidroperóxidos (producto primario de la oxidación) y otro radical lipídico, por lo que la reacción se propaga a una velocidad alta, como se muestra claramente por un marcado aumento en la cinética de formación de hidroperóxidos. En la fase de terminación, el proceso de oxidación continúa con la transformación de hidroperóxidos en compuestos secundarios de oxidación no radicales. El principal mecanismo de descomposición del hidroperóxido implica la ruptura del doble enlace adyacente al grupo hidroperóxido, conduciendo a la formación de hidrocarburos, aldehídos y cetonas. El tipo de subproducto obtenido después de la oxidación del ácido graso es determinado por la composición del hidroperóxido y por el tipo de rotura del doble enlace en la cadena del ácido graso, por lo que se generan diferentes tipos de compuestos volátiles o no volátiles (Laguerre *et al.*, 2007).

2.2.8.3. Foto-oxidación de los lípidos

Un vía alternativa a la producción de radicales libres que también conduce a la formación de hidroperóxidos es la ruta foto-oxidativa. En este caso la oxidación de los lípidos (fotooxidación tipo I) o la excitación del oxígeno (fotooxidación tipo II) se produce en presencia de luz y de un agente sensibilizante. En la ruta fotooxidativa no hay periodo de inducción. A continuación se describen los diferentes tipos de foto-oxidación:

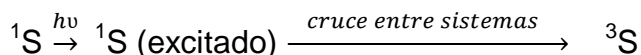
a) Foto-oxidación tipo I

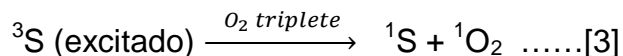
Este tipo de oxidación transcurre en presencia de algunas sustancias sensibilizantes, tales como la riboflavina, y se caracteriza por la transferencia de un átomo de hidrógeno o un electrón entre el triplete excitado de la sustancia sensibilizante y un sustrato, tal como un ácido graso poli-insaturado, produciendo radicales libres o iones radicales libres ([1] y [2]). Son estos compuestos los que entonces desencadenan la autooxidación:



b) Foto-oxidación tipo II

El oxígeno se encuentra normalmente en el estado de más baja energía, es decir, como triplete, 3O_2 , en el que los dos electrones de mayor energía poseen “espines” paralelos y se encuentran en diferentes orbitales degenerados. La reacción directa de una molécula de 1O_2 con una molécula lipídica, RH, contraviene el principio de conservación del momento angular del *spin*, ya que las moléculas lipídica y el hidroperóxido producido deberían estar en un estado electrónico singulete. De ahí que la reacción del oxígeno con la molécula lipídica, según la reacción deba resultar en un cambio en el momento angular del spin. Sin embargo, el oxígeno triplete puede ser excitado por la luz al estado singulete en presencia de un agente sensibilizante, tal como la clorofila, bilirrubina, rivo flavina, feofitinas, de acuerdo con la reacción [3]. El singulete reacciona con los lípidos insaturados más rápidamente que el triplete a través de una reacción por la que se producen hidroperóxidos alílicos con pérdida de un doble enlace.





El oxígeno singulete así formado puede reaccionar más tarde con un ácido graso poli-insaturado para formar un hidroperóxido (Pokorny *et al.*, 2001).

2.2.8.4. Oxidación lipídica catalizada por los metales

Todas las materias de origen biológico contienen pequeñas cantidades de metales de transición que no pueden ser eliminados durante los procesos normales de los alimentos. Los metales de transición como el Fe, Co y Cu, que poseen dos o más estados de valencia y capacidad de oxidación-reducción, afectan tanto a la velocidad de autooxidación como al tipo de compuestos volátiles formados durante la rotura de los hidroperóxidos. Los iones de metales de transición, en su estado de valencia más bajo $M^{(n+)}$, reaccionan muy rápidamente con los hidroperóxidos, actuando como donantes de un electrón para formar radicales alcoxilo, lo cual puede ser considerado como la ramificación de la fase de propagación (Pokorny *et al.*, 2001).

2.2.8.5. Enranciamiento cetónico

Esta reacción se produce como consecuencia de la oxidación enzimática de los ácidos grasos saturados de baja masa molecular, dando lugar a la formación de metilcetonas y alcoholes alifáticos que provocan un aroma a enmohecido y añejo. Las enzimas capaces de provocar este tipo de alteraciones son producidas por el desarrollo sobre el alimento de unos tipos de mohos, conocidos con el nombre *dry molds* (por ejemplo, *Eurotium amstelodami*), que pueden desarrollarse sobre sustratos de ácidos grasos cuando las condiciones ambientales de temperatura y humedad le resultan favorables. Los principales ácidos grasos afectados por las enzimas de estos mohos son los ácidos caprílico (C-8), cáprico (C-10) y láurico (C-12), que por un mecanismo de beta-oxidación y de descarboxilación se degradan a metilcetonas (Bello, 2000).

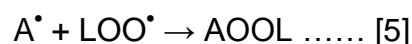
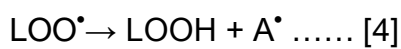
2.2.9. Antioxidantes alimentarios

Desde el punto de vista legal, los antioxidantes son sustancias que prolongan la duración de los productos alimenticios protegiéndolos contra el deterioro causado por la oxidación, el cual conlleva al enranciamiento de las grasas, cambios de coloración o pérdida del valor nutritivo.

Se han descrito cientos de compuestos, tanto naturales como sintéticos, que poseen propiedades antioxidantes; sin embargo, su uso en alimentación viene limitada por ciertos requisitos obvios, los cuales no suponen que vayan a ser seguros. Las sustancias que protegen a los alimentos contra la autooxidación deberían recibir el nombre de inhibidores de la oxidación y solamente aquellas sustancias capaces de inhibir la oxidación por reacción frente a los radicales libres deberían ser llamadas antioxidantes. Los inhibidores preventivos actúan como primera línea de defensa suprimiendo la formación de radicales libres y especies activas de oxígeno. Los antioxidantes que captan radicales constituyen la segunda línea de defensa al inhibir la iniciación de la reacción en cadena y/o romper su propagación (Pokorny *et al.*, 2001).

2.2.9.1. Antioxidantes por rotura de la reacción en cadena

Estos inhibidores de uso muy frecuente en los alimentos son capaces de competir con el sustrato por las especies incluidas en la reacción en cadena, presentes normalmente en el sistema a altas concentraciones, los radicales peroxilos, LOO^{\bullet} . Los secuestradores de radicales frecuentemente donan un electrón al electrón desapareado del radical libre reduciéndolo. Es bien sabido que estos eficientes inhibidores terminan la reacción en cadena de los radicales libres atrapando radicales peroxilo de acuerdo con las reacciones (4 y 5) que se muestran a continuación



Una acción característica de este tipo de antioxidante es que provoca un periodo de latencia, llamado período de inducción (PI), el cual es de una duración proporcional a su concentración y es mantenido hasta que el 90% del antioxidante se ha descompuesto o inactivado. Durante este periodo de latencia, la pero-oxidación de los lípidos transcurre a una velocidad muy lenta, pero finalmente progresa a una velocidad igual o incluso mayor a la de los lípidos no protegidos (Pokorny *et al.*, 2001).

2.2.9.2. Inhibidores preventivos

Los inhibidores preventivos desactivan las especies activas y los posibles precursores de los radicales libres reduciendo su velocidad de formación. Las sustancias capaces de descomponer peróxidos, tales como los tioéteres, la metionina y el ácido tioldipropiónico y sus ésteres, previenen la formación de radicales libres para la iniciación de nuevas reacciones en cadena. Los compuestos quelantes de iones metálicos reducen la velocidad de las reacciones por lo que también se consideran inhibidores preventivos. Por ejemplo, la transferrina y la albúmina son capaces de ligar hierro y cobre (Pokorny, et al, 2001).

2.2.10. Vida de anaquel de los productos alimentarios

La vida de anaquel en un alimento es generalmente definida como el tiempo durante el cual un producto que sigue siendo seguro microbiológicamente, cumple con sus características nutricionales, retiene sus características sensoriales, físicas, químicas y microbiológicas deseadas cuando es almacenada bajo condiciones recomendadas por el productor. La vida de anaquel se encuentra en función del tiempo, de factores ambientales y de la susceptibilidad del producto al cambio de calidad. Los cambios físicos, químicos y biológicos que ocurren a lo largo de la cadena del alimento generalmente conducen a un deterioro del producto y estos cambios podrían comprometer con el tiempo la calidad nutricional, microbiológica y sensorial. En muchos productos los cambios en las características sensoriales ocurren antes que cualquier riesgo a la salud de los consumidores se alcance (Giménez *et al.*, 2012). Las pruebas de vida de anaquel consisten básicamente en seleccionar las características de calidad que son deterioradas más rápidamente con el tiempo y el modelo matemático que describe su cambio (Fun y Labuza, 1993).

El conocimiento y comprensión de los mecanismos implicados en el deterioro de un alimento, permite al que ha desarrollado el producto, al encargado de calidad y al comercializador identificar los factores que tienen una mayor influencia en la misma. A pesar de que no es posible evitar completamente el deterioro de un producto se pueden encontrar soluciones para retrasar o minimizar su impacto, de manera que el producto tenga un período de caducidad aceptable comercialmente.

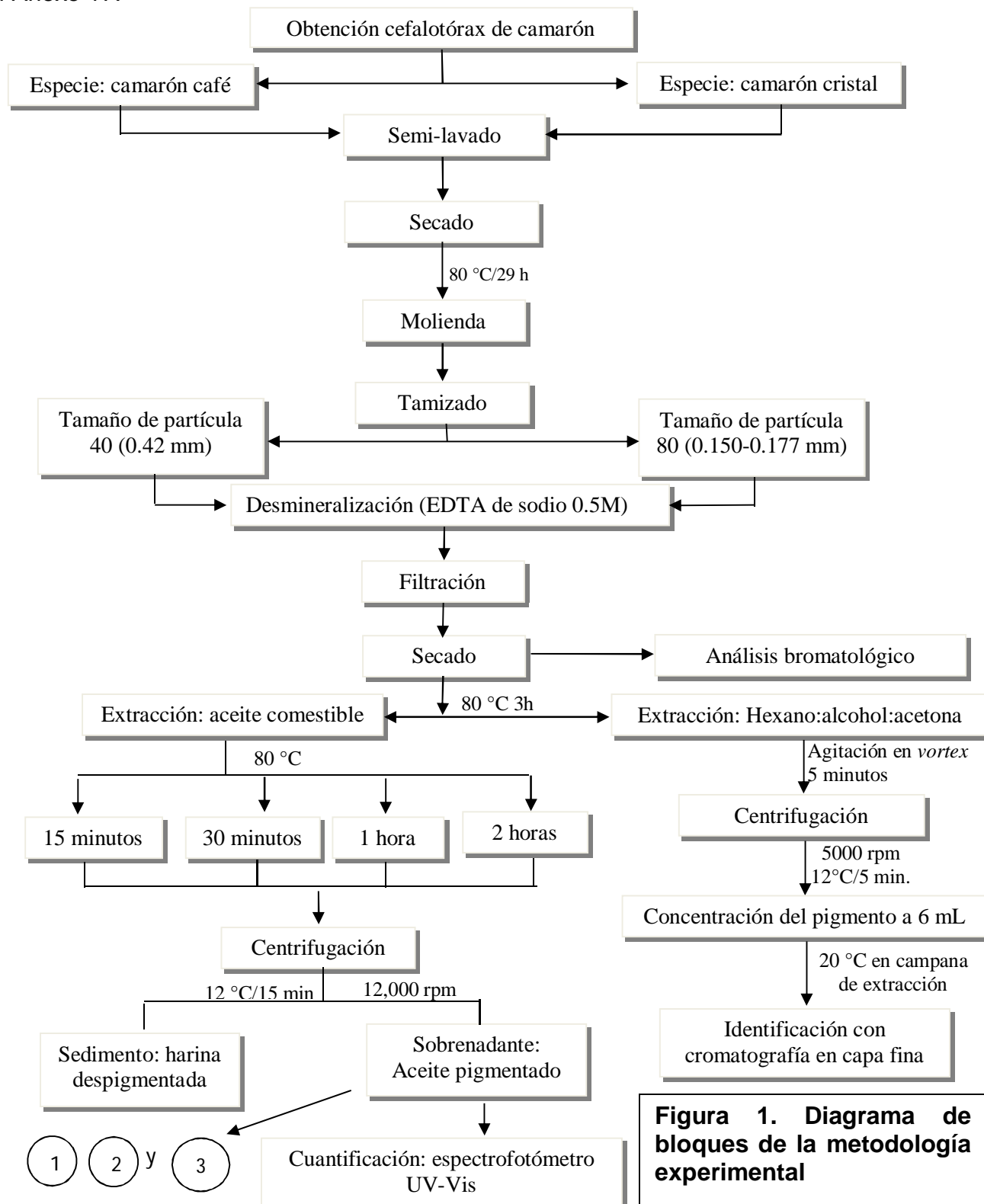
2.2.10.1. Pruebas de envejecimiento acelerado

La determinación acelerada de la vida de anaquel (*ASLD, Accelerated shelf life determination*, por sus siglas en inglés) consiste de una serie de pruebas que se utilizan para disminuir el tiempo necesario para estimar la caducidad de un producto que de otra manera sería excesivamente largo de determinarse; esto resulta aún más relevante cuando un alimento se desarrolla para tener una caducidad larga (meses o años) (Ruiz *et al.*, 2008). Al acelerar los cambios que ocurren en un producto durante su almacenamiento, puede entonces utilizarse para estimar la vida de anaquel a una temperatura de almacenamiento real. En las pruebas de envejecimiento acelerado se supone que los principios de cinética química se pueden aplicar para cuantificar los efectos que tienen factores como la temperatura, humedad, aire y luz en las reacciones de deterioro. Durante la evaluación a seguir, los productos deben ser almacenados al menos bajo tres condiciones distintas:

- **Condiciones óptimas:** Proporcionan datos sobre el tiempo de caducidad más largo que pueda tener el producto.
- **Condiciones típicas:** Proporcionan datos para establecer el tiempo de caducidad para la mayoría de la producción en cualquier época en que se elabore. Estas condiciones son a las que estará sometido el producto una vez que haya sido producido, durante su almacenamiento y mientras se encuentre en el anaquel para su venta.
- **Condiciones adversas:** Los datos obtenidos al someter a un producto a estas condiciones, son útiles para establecer el tiempo mínimo de conservación. Estas condiciones se pueden dar cuando el producto es sometido a temperaturas mayores a las condiciones típicas (Acatzi *et al.*, 2010).

3. METODOLOGÍA

En la Figura 1 se presenta el diagrama de bloques seguido durante el desarrollo experimental. La disposición de los residuos generados en esta investigación se muestra en el Anexo 17.



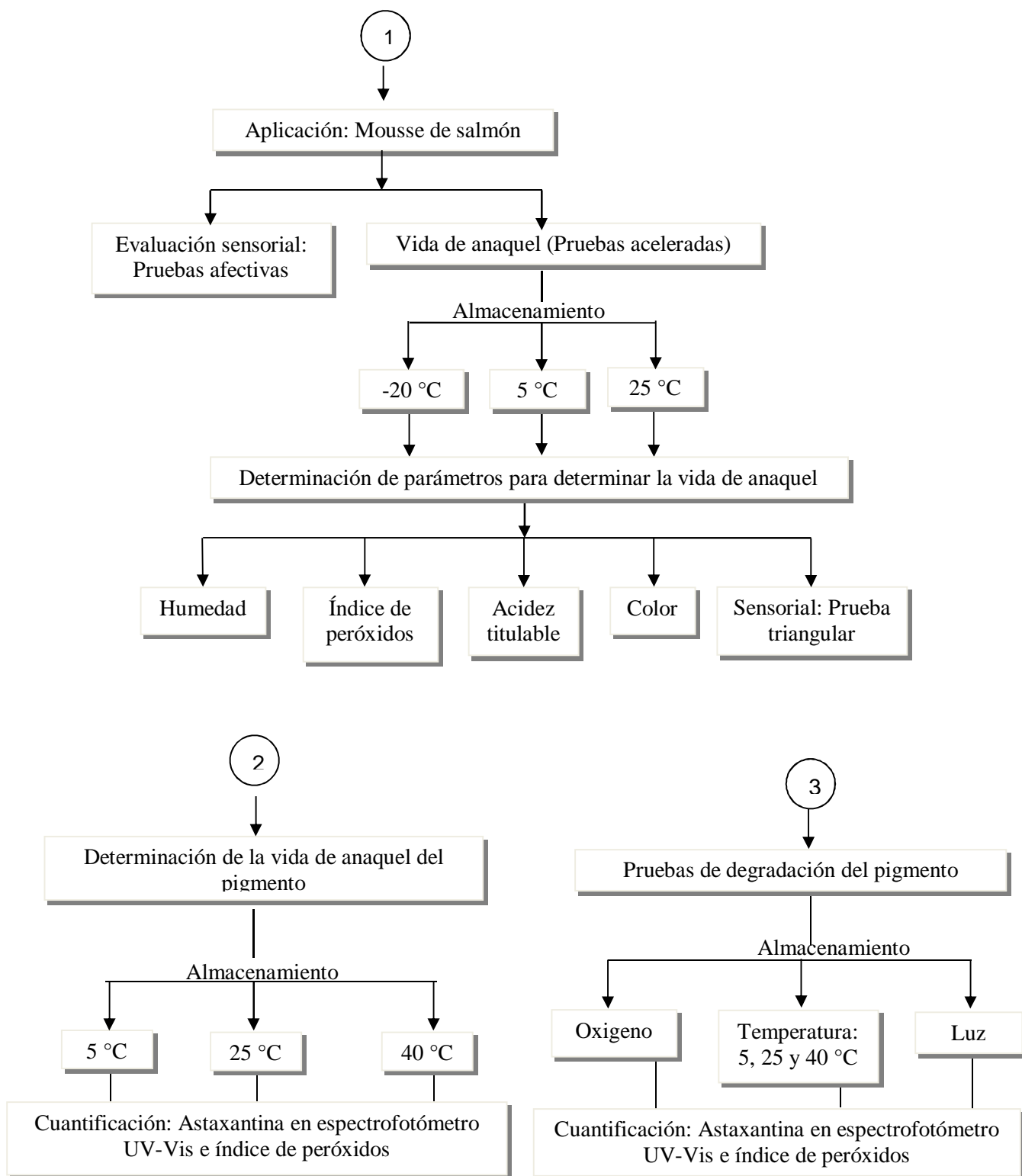


Figura 1. Diagrama de bloques de la metodología experimental (Continuación)

3.1. Obtención y preparación de la muestra

Los cefalotórax de camarón utilizados en esta investigación (camarón café, Ca y cristal, Cr), fueron obtenidos en la zona de pescados y mariscos de la Central de Abasto (La Nueva Viga) en la Ciudad de México. Una vez obtenidos se transportaron a los Laboratorios 301, 302 y 303 del Conjunto E de la Facultad de Química de la UNAM en bolsas de plástico negras, cubiertos con hielo para evitar al máximo su posible descomposición.

Posteriormente, los cefalotórax de ambas especies estudiadas se lavaron superficialmente con agua potable, sólo removiéndose la materia extraña que contenía sin ser un lavado tan exhaustivo debido a que en estudios anteriores se determinó que la mayor cantidad de pigmentos eran obtenidos mediante un lavado superficial al que se le denominó semilavado (Alarcón, 2011). Una vez lavados se secaron en estufa (Felisa, modelo F-293D, México) a 80°C hasta obtener una humedad del 3-4% (aproximadamente 29-30 horas en total).

Finalmente, fueron molidos por separado en una licuadora Hamilton Beach modelo 50242R-MX (México) hasta obtenerse las harinas, las cuales fueron tamizadas en mallas del número 40 y 80 (0.42 mm y 0.150-0.177 mm, respectivamente) con el objetivo de homogeneizar el tamaño de partícula.

3.2. Desmineralización de la harina

Las harinas obtenidas previamente fueron desmineralizadas empleando una solución de EDTA de sodio 0.5 M en una relación 1:6 masa:volumen, mediante una agitación constante (200 rpm) durante una hora. Posteriormente, fueron lavadas con agua destilada hasta que ésta saliera lo más clara posible. Una vez lavadas fueron retenidas en un trozo de tela de algodón blanco de tamaño equivalente al papel filtro Whatman No. 1, para proceder finalmente al secado de las harinas desmineralizadas a 80°C durante 3 horas hasta obtener una humedad del 3 a 4% y posteriormente fueron resguardadas en un recipiente oscuro para no dañar el pigmento (García, 2008). De esta forma, al final se obtuvieron cuatro tipos de harinas desmineralizadas: 1) de camarón cristal con tamaños de partículas de HD_{Cr40} y HD_{Cr80} y 2) de camarón café con tamaños de partículas de HD_{Ca40} y HD_{Ca80}.

3.1. Obtención y preparación de la muestra

Los cefalotórax de camarón utilizados en esta investigación (camarón café, Ca y cristal, Cr), fueron obtenidos en la zona de pescados y mariscos de la Central de Abasto (La Nueva Viga) en la Ciudad de México. Una vez obtenidos se transportaron a los Laboratorios 301, 302 y 303 del Conjunto E de la Facultad de Química de la UNAM en bolsas de plástico negras, cubiertos con hielo para evitar al máximo su posible descomposición.

Posteriormente, los cefalotórax de ambas especies estudiadas se lavaron superficialmente con agua potable, sólo removiéndose la materia extraña que contenía sin ser un lavado tan exhaustivo debido a que en estudios anteriores se determinó que la mayor cantidad de pigmentos eran obtenidos mediante un lavado superficial al que se le denominó semilavado (Alarcón, 2011). Una vez lavados se secaron en estufa (Felisa, modelo F-293D, México) a 80°C hasta obtener una humedad del 3-4% (aproximadamente 29-30 horas en total).

Finalmente, fueron molidos por separado en una licuadora Hamilton Beach modelo 50242R-MX (México) hasta obtenerse las harinas, las cuales fueron tamizadas en mallas del número 40 y 80 (0.42 mm y 0.150-0.177 mm, respectivamente) con el objetivo de homogeneizar el tamaño de partícula.

3.2. Desmineralización de la harina

Las harinas obtenidas previamente fueron desmineralizadas empleando una solución de EDTA de sodio 0.5 M en una relación 1:6 masa:volumen, mediante una agitación constante (200 rpm) durante una hora. Posteriormente, fueron lavadas con agua destilada hasta que ésta saliera lo más clara posible. Una vez lavadas fueron retenidas en un trozo de tela de algodón blanco de tamaño equivalente al papel filtro Whatman No. 1, para proceder finalmente al secado de las harinas desmineralizadas a 80°C durante 3 horas hasta obtener una humedad del 3 a 4% y posteriormente fueron resguardadas en un recipiente oscuro para no dañar el pigmento (García, 2008). De esta forma, al final se obtuvieron cuatro tipos de harinas desmineralizadas: 1) de camarón cristal con tamaños de partículas de HD_{Cr40} y HD_{Cr80} y 2) de camarón café con tamaños de partículas de HD_{Ca40} y HD_{Ca80}.

3.3. Análisis bromatológico de las harinas

Con el objetivo de evaluar la existencia de diferencias entre las composiciones porcentuales de ambas especies y si ésta afectaría de manera significativa la cantidad de pigmentos, se realizó la caracterización de las harinas enteras de: camarón café y *de camarón cristal*, realizando su análisis bromatológico según la metodología descrita por la AOAC (1995).

3.4. Extracción de los pigmentos carotenoides (astaxantina)

Para obtener una mayor cantidad de pigmentos carotenoides se colocó cada harina en un matraz Erlenmeyer de 125 mL en una relación de 4 g de harina desmineralizada por cada 10 mL de aceite de girasol comercial con base en lo reportado por Alarcón (2011), cubriendo completamente el matraz con papel de aluminio para resguardarlo de la luz. Las condiciones óptimas de extracción reportadas por García (2008), fueron las siguientes: la mezcla del aceite y la harina fueron sujetos a una agitación constante durante 15 minutos a una temperatura de 80°C al resguardo de la luz, dejándose enfriar a temperatura ambiente y centrifugándose a 12,000 rpm durante 15 minutos a una temperatura de 12°C, recuperando el extracto oleoso y almacenándolo en refrigeración al resguardo de la luz. Con el objetivo de evaluar si era posible la obtención de una recuperación mayor del pigmento se modificó el tiempo de extracción, utilizándose diferentes tiempos: 15 minutos, 30 minutos, 1 hora y 2 horas. Por tanto, para determinar las condiciones óptimas de extracción de astaxantina del cefalotórax de camarón, se trabajó con un diseño factorial 3⁴, teniendo como factores los siguientes parámetros: a) tamaños de partícula (40 y 80 µm), b) tiempos de extracción (15, 30, 60, 120 minutos) y c) tipos de especie manejadas (camarón café y camarón cristal), siendo la variable dependiente la concentración de astaxantina obtenida. El diseño experimental seguido durante la investigación se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5: Diseño experimental de la extracción de pigmentos carotenoides (astaxantina)

Tiempo de extracción (minutos)	Especie de camarón			
	Camarón café		Camarón cristal	
	Tamaño de partícula		Tamaño de partícula	
	40 (0.42mm)	80 (0.150-0.177mm)	40 (0.42mm)	80 (0.150-0.177mm)
15	▲	▲	▲	▲
30	▲	▲	▲	▲
60	▲	▲	▲	▲
120	▲	▲	▲	▲

▲ = [astaxantina] en µg de astaxantina / g de harina

3.5. Cuantificación de los pigmentos carotenoides (astaxantina)

La cuantificación de los pigmentos carotenoides obtenidos del cefalotórax de camarón fueron cuantificados en un espectrofotómetro UV-Vis marca GBC modelo Cintra 5 (EEUU) a una longitud de onda de 475 nm. Para poder obtener la cuantificación de la astaxantina en aceite de girasol se realizó la interpolación de los valores de absorbancia de las muestras, empleando para ello una curva patrón, en la cual se utilizó como estándar astaxantina comercial de la marca Sigma-Aldrich y aceite de girasol comercial utilizado para la extracción.

3.6. Identificación de los pigmentos obtenidos de la harina de cefalotórax de camarón

La extracción del pigmento para identificar la astaxantina se determinó de acuerdo con la metodología propuesta por Britton (1985), realizando las siguientes adaptaciones: Se pesaron 0.2 g de muestra en un tubo de ensayo de 50 mL agregándose perlas de vidrio de 0.45 a 0.50 mm, 20 mL de una mezcla de disolventes hexano:etanol:acetona (50:25:25) y agitando durante 5 minutos en *vórtex* a velocidad moderada para evitar el derrame de la muestra. Se adicionaron otros 20 mL de la mezcla de disolventes y se siguió con la agitación durante 5 minutos más. La separación de las fases se efectuó por centrifugación durante 5 minutos a 5000 rpm; quedando en la epifase de hexano los pigmentos disueltos, los cuales se recuperaron con una pipeta Pasteur.

Una vez recuperada la muestra fue concentrada hasta aproximadamente 6 mL, mediante una campana de extracción a 20°C para evaporar el disolvente. El volumen final del extracto se utilizó para la separación de la astaxantina por medio de cromatografía en capa fina (TLC), sobre placas de gel de sílice o *silica gel* en inglés (Kieselgel 60 F₂₅₄ sin indicador fluorescente) de 20 cm x 20 cm x 0.25 mm. La elución de la muestra fue realizada en una fase móvil conteniendo éter de petróleo:acetona (80:20) en una cámara sobresaturada.

La identificación se llevó a cabo mediante el contraste del R_f del pigmento obtenido de la harina desmineralizada del cefalotórax de camarón y el compuesto de referencia comercial (estándar) del pigmento de la marca Sigma-Aldrich.

3.7. Degradación y oxidación de los pigmentos carotenoides (astaxantina) bajo diferentes condiciones de almacenamiento: temperatura, oxígeno y luz

Para determinar la degradación del pigmento bajo diferentes condiciones de almacenamiento, se colocaron 10 mL de los pigmentos extraídos en frascos de vidrio y se almacenaron bajo diferentes condiciones como se aprecia en el diseño experimental de la Tabla 6, en el cual se aprecia que es un diseño desbalanceado debido a que las condiciones bajo las cuales se trabajó no permitió analizar todas las variables. Por ejemplo, era difícil mantener a temperatura de 40°C en un baño maría por la presencia de una lámpara incandescente sobre la muestra durante 5 días, por lo que para realizar el análisis estadístico de los datos se utilizó el modelo general lineal (MGL), el cual permite analizar este tipo de diseños desbalanceados. La cuantificación del contenido de astaxantina de cada muestra se evaluó mediante un espectrofotómetro UV-Vis marca GBC modelo Cintra 5 (EEUU) a una longitud de onda (λ) a 475 nm y el índice de peróxidos el cual se determinó de acuerdo a lo reportado por el método de la AOAC 965.33 (AOAC, 1995); en el cual 0.5±0.05 g de aceite pigmentado fue disuelto en 2.5 mL de ácido acético:diclorometano (3:2v:v), adicionando 0.05 mL de una solución saturada de KI, manteniéndose en la oscuridad durante 60s para posteriormente añadirse 7.5 mL de agua destilada, hervida y enfriada y 0.3 mL de almidón al 1%. Finalmente, se realizó una titulación con tiosulfato de sodio 1x10⁻⁴N hasta que el color azul desapareciera. Las cuantificaciones se realizaron por triplicado durante 5 días seguidos.

Tabla 6. Condiciones de almacenamiento del pigmento extraído del cefalotórax de camarón

Tiempo (Días)	Disponibilidad de oxígeno											
	Contacto con atmosfera						Ausencia de atmosfera					
	Iluminación						Iluminación					
	Luz			Oscuridad			Luz			Oscuridad		
	Temperatura						Temperatura					
	4°C	25°C	40°C	4°C	25°C	40°C	4°C	25°C	40°C	4°C	25°C	40°C
0	x	▲	x	▲	▲	x	▲	▲	x	▲	▲	▲
1	x	▲	x	▲	▲	x	▲	▲	x	▲	▲	▲
2	x	▲	x	▲	▲	x	▲	▲	x	▲	▲	▲
3	x	▲	x	▲	▲	x	▲	▲	x	▲	▲	▲
4	x	▲	x	▲	▲	x	▲	▲	x	▲	▲	▲

▲ = se midieron las variables: IP (índice de peróxidos) y la degradación de los pigmentos carotenoides (astaxantina).
 x = no fueron cuantificadas estas variables debido a la dificultad entre las condiciones de trabajo en la muestra

3.8. Determinación del efecto antioxidante de los pigmentos carotenoides (astaxantina)

Para determinar el efecto antioxidante de los pigmentos carotenoides (astaxantina), se almacenaron 10 mL del aceite de girasol (sin pigmento) en viales de 20 mL, los cuales fueron tratados bajo las mismas condiciones que los que contenían los pigmentos carotenoides (astaxantina) del cefalotórax de camarón en el aceite de girasol; es decir, se mantuvieron al resguardo de la luz y del oxígeno durante todo momento. La cuantificación del índice de peróxidos se realizó mediante el método de la AOAC (1995) bajo diferentes temperaturas de almacenamiento (4, 25, 40°C) cuantificándose los peróxidos a los días 0, 7, 14, 20, 28 y 32. Para determinar el efecto antioxidante proporcionada por la astaxantina se compararon los resultados obtenidos del aceite de girasol sin pigmentos con el aceite con pigmentos carotenoides (astaxantina). Para ello, se siguió un diseño experimental de 3⁶ el cual se presenta a continuación en la Tabla 7.

Tabla 7: Diseño experimental utilizado para medir el efecto antioxidante de la astaxantina

Tiempo (días)	Antioxidante					
	Presencia de antioxidante			Ausencia de antioxidante		
	Temperatura			Temperatura		
	4°C	25°C	40°C	4°C	25°C	40°C
0	▲	▲	▲	▲	▲	▲
7	▲	▲	▲	▲	▲	▲
14	▲	▲	▲	▲	▲	▲
20	▲	▲	▲	▲	▲	▲
28	▲	▲	▲	▲	▲	▲
32	▲	▲	▲	▲	▲	▲

▲ = se midió la variable IP (índice de peróxidos)

3.9. Determinación de la vida de anaquel de los pigmentos carotenoides (astaxantina)

Para realizar esta determinación se utilizó el método de pruebas aceleradas o *ASLD* (*Accelerated shelf life determination*, por sus siglas en inglés) con el objetivo de determinar la vida de anaquel de los pigmentos carotenoides (astaxantina). Para ello, se colocaron 10 mL de los pigmentos extraídos en viales de vidrio al resguardo de la luz y del oxígeno; posteriormente, se almacenaron bajo diferentes temperaturas, 5, 25 y 40°C, determinándose el contenido de pigmentos carotenoides (astaxantina) en un espectrofotómetro UV-Vis a una longitud de onda de 475 nm. La formación de hidroperóxidos se determinó mediante el índice

de peróxidos según lo establecido por la AOAC (1995). Las determinaciones fueron realizadas a los días 0, 7, 14, 20, 28 y 32. Para la determinación de la vida de anaquel de los pigmentos carotenoides se utilizó un diseño experimental de 2⁶, el cual se muestra en la Tabla 8.

Tabla 8: Diseño experimental para la determinación de la vida de anaquel de los pigmentos carotenoides extraídos del cefalotórax de camarón

Tiempo (días)	Temperatura de almacenamiento		
	4°C	25°C	40°C
0	▲	▲	▲
7	▲	▲	▲
14	▲	▲	▲
20	▲	▲	▲
28	▲	▲	▲
32	▲	▲	▲

▲ = se midieron las variables: IP (índice de peróxidos) y degradación de la astaxantina

3.10. Incorporación de los pigmentos en un alimento: elaboración de un mousse de salmón

Una vez obtenido el aceite pigmentado, se incorporó a un alimento que, en este caso, se propuso fuera un mousse de salmón obteniéndose los ingredientes para su preparación de un supermercado comercial en la Ciudad de México. El mousse de salmón se elaboró con base en una formulación general (Tabla 9), a la cual sólo se le modificó el contenido de pigmentos carotenoides (astaxantina) adicionados en concentraciones baja, media y alta de 1.75, 3.44 y 4.27%, en las que en evaluaciones preliminares no se percibió un resabio a camarón en el producto elaborado. Posteriormente, se cuantificó el color de las cuatro formulaciones utilizando un colorímetro Minolta spectrophotometer modelo CM-3600D realizándose la comparación del color del salmón fresco adquirido en un supermercado contra un salmón enlatado industrialmente adquirido en un supermercado. Para la evaluación colorimétrica se realizó cada muestra por triplicado reportándose los valores obtenidos en la escala CIELAB (L*, a* y b*). Para la elaboración del mousse de salmón se batió la crema con una batidora marca Kitchen Aid modelo KSM90 (USA) hasta llegar al llamado punto de nieve (cuando se forma la emulsión con aire y no se separan las fases); posteriormente, se adicionaron los ingredientes restantes. Una vez obtenida la emulsión se adicionó el aceite pigmentado con astaxantina a las diferentes concentraciones manejadas y se homogeneizó la pasta. Finalmente se adicionó la crema para batir de forma envolvente para evitar pérdida

de aire. La mezcla se colocó en un recipiente refractario de vidrio y se refrigeró durante 24 h a $4\pm 1^\circ\text{C}$.

Tabla 9. Formulaciones empleadas en porcentajes para la elaboración del mousse de salmón

Ingredientes	Formulación 1 (%)	Formulación 2 (%)	Formulación 3 (%)	Formulación 4 (%)
Salmón	26.78	26.31	25.85	25.63
Crema para batir	31.24	30.69	30.16	29.90
Queso crema	13.39	13.15	12.92	12.81
Mayonesa	13.39	13.15	12.92	12.81
Grenetina	2.67	2.63	2.58	2.56
Limón	5.35	5.26	5.17	5.12
Sal	0.46	0.45	0.45	0.44
Ajo en polvo	0.26	0.26	0.25	0.25
Pigmento	0 (sin adición de pigmento)	1.75	3.44	4.27

3.11. Evaluación sensorial del mousse de salmón

La evaluación del mousse de salmón se llevó a cabo por 86 consumidores en un restaurante cooperante llamado “Ola Marina” ubicado en la Av. Chapultepec #267 de la Ciudad de México. Las muestras se presentaron ante los consumidores en platos sobre galletas neutras (conocidas como *Habaneras*), codificadas y distribuidas de manera aleatoria. El cuestionario utilizado se muestra en el Anexo 11. Para analizar las formulaciones en cuanto a su coloración (Tabla 9) se utilizó una prueba de preferencia y, en cuanto al sabor, se utilizaron dos pruebas: a) Prueba de nivel de agrado y b) Prueba de preferencia. Los datos de las pruebas de preferencia fueron analizados estadísticamente mediante el análisis de ordenamiento de rangos, mientras que la prueba de nivel de agrado se analizó mediante un análisis de varianza, *andeva* (*ANOVA*, en inglés, por *analysis of variance*).

3.12. Determinación de la vida de anaquel del mousse de salmón

Para determinar la vida de anaquel del mousse de salmón, se utilizó nuevamente el método de pruebas aceleradas (*Accelerated Shelf Life Tests, ASLT*). Para la determinación de la vida de anaquel se preparó una cantidad suficiente de mousse de salmón, el cual fue almacenado en frascos de plástico (*PET*, en inglés, por *polyethylene tereftalate*) manteniéndose en refrigeración durante 24 horas. Posteriormente, el mousse fue almacenado bajo tres diferentes temperaturas (-20 , 4 y 25°C). Los parámetros físicos y químicos utilizados para la determinación de la vida de anaquel se cuantificaron por triplicado en los días 0, 7, 14, 18, 22

y 25. Para la determinación de la vida de anaquel por el método *ASLT* se siguió un diseño experimental 2⁶ (Tabla 10), en el cual fueron evaluados los siguientes factores fisicoquímicos:

- ☆ **Humedad:** Para determinar la humedad se colocaron 0.5 g de mousse de salmón en una termobalanza OHAUS modelo MB200 (USA) durante 15 minutos a 150°C.
- ☆ **Índice de peróxidos:** Se siguió la metodología descrita por la AOAC (1995). Para ello se determinó a partir de la extracción de la grasa por el método de lotes; colocándose 10 g de mousse en un matraz Erlenmeyer de 250 mL con 40 mL de éter de petróleo manteniéndose en agitación constante durante 10 minutos; posteriormente, se dejó sedimentar y se decantó la parte superior sobre un matraz bola, se repitió este procedimiento hasta la extracción total de la grasa verificando esto dejando caer una gota del decantado sobre un papel filtro (al evaporarse el disolvente no debe dejar residuo de grasa). Finalmente, el disolvente se evaporó en un evaporador rotatorio al vacío (conocido coloquialmente como *rotoevaporador*).
- ☆ **Acidez titulable:** El análisis de la acidez titulable utilizó la metodología propuesta por Revilla (1982), colocándose 3 g de mousse de salmón con 10mL de agua destilada en un matraz Erlenmeyer de 125 mL agitándose hasta obtener una disolución lo más homogénea posible; posteriormente, se adicionaron 3 gotas de fenolftaleína al 1%. La titulación se realizó con hidróxido de sodio 0.1N hasta presentarse un ligero vire rosa.
- ☆ **Determinación de color:** Este parámetro fue determinado mediante un colorímetro Minolta Spectrophotometer CM-3600dl (Japón), reportándose los resultados en la escala de color CIELAB (valores L*, a* y b*). Para cada muestra determinada se realizaron tres repeticiones.

Tabla 10: Diseño experimental para la determinación de la vida de anaquel del mousse de salmón con pigmentos carotenoides extraídos del cefalotórax de camarón

Tiempo (días)	Temperatura de almacenamiento		
	-20°C	4°C	25°C
0	▲	▲	▲
7	▲	▲	▲
14	▲	▲	▲
18	▲	▲	▲
21	▲	▲	▲
25	▲	▲	▲

▲ = se midieron las variables: IP (índice de peróxidos), acidez, cambio de color durante su almacenamiento y humedad

3.13. Estudio microbiológico y evaluación sensorial del mousse de salmón durante su almacenamiento

Aunado a las pruebas fisicoquímicas, se realizó una evaluación sensorial, con 30 jueces no entrenados, aplicándose una prueba triangular (Anexo 13), en la cual se determinó si la muestra almacenada y un control (muestra recién preparada) eran consideradas perceptiblemente diferentes. Lo anterior se realizó con la finalidad de encontrar el denominado *Cut-off point*³. La muestra control se almacenó durante 5 días como máximo a 5°C siendo preparada nuevamente para los siguientes análisis. El acomodo de las muestras se realizó de manera aleatoria seleccionándose códigos para cada muestra. Debido a la naturaleza perecedera del producto se aceleró la frecuencia de la prueba en algunas muestras deteniéndose cuando se encontró una diferencia significativa de acuerdo al cálculo de la ji-cuadrada; por lo que para muestras almacenadas a 25°C, la evaluación se llevó a cabo los días 0, 1 y 2. Para las muestras almacenadas a 5°C se evaluaron a los días 0, 7, 8, 10, 14, 18, 22 y 25. Mientras que para las muestras almacenadas a -20°C se evaluaron los días 0, 7, 14, 18, 22 y 25. Para llevar a cabo la evaluación sensorial, se realizó un estudio microbiológico con el objetivo de asegurar la inocuidad alimentaria del alimento, cuidando la seguridad del panel de jueces. El control microbiológico se realizó mediante un análisis de coliformes totales, mesófilos aerobios, hongos y levaduras según lo reportado por Cruz *et al.* (2007).

Para realizar la evaluación microbiológica se tomaron 10 g de muestra de manera aséptica colocándose en una bolsa de plástico tipo *ziploc*. Posteriormente, se añadieron 90 mL de agua peptonada. Una vez homogeneizada la muestra fue trasvasada nuevamente al matraz Erlenmeyer de 250 mL, realizándose diluciones de 10^{-2} a 10^{-4} por duplicado. Finalmente, para las determinaciones de mesófilos y coliformes totales, las cajas Petri con el medio de cultivo conteniendo a la muestra fueron incubadas a 37°C durante 24 h. Para cuantificarse la presencia de hongos y levaduras en las cajas Petri, las muestras se incubaron a temperatura ambiente durante 5 días. El análisis microbiológico se efectuó antes de cada evaluación sensorial, llevándose a cabo los días 0, 1, 2, 7, 8, 10, 14, 18, 22 y 25.

³ Es el punto en el que se encuentra una diferencia entre un producto recién elaborado y un producto almacenado

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Caracterización de la harina de cefalotórax de camarón

Los resultados obtenidos del análisis bromatológico de las dos especies estudiadas, Camarón café y camarón cristal se presentan en la Tabla 11. En cuanto a estos valores del análisis bromatológico se encontraron diferencias significativas con un nivel de significancia del 0.05 al realizarse el análisis de varianza factorial por componente entre ambas especies, con excepción del contenido de cenizas (Anexo 1).

Tabla 11. Análisis bromatológico de las harinas de cefalotórax de camarón café y cristal

Especie	Camarón café				Camarón cristal			
	HE ₄₀	HE ₈₀	HD ₄₀	HD ₈₀	HE ₄₀	HE ₈₀	HD ₄₀	HD ₈₀
Componente (%)								
Cenizas	24.15 ^{±0.15}	21.41 ^{±0.72}	6.00 ^{±0.52}	3.85 ^{±0.14}	24.44 ^{±0.87}	21.79 ^{±0.68}	6.78 ^{±0.61}	3.72 ^{±0.39}
Grasa	4.37 ^{±0.39}	4.77 ^{±0.46}	5.39 ^{±0.37}	5.71 ^{±0.24}	5.38 ^{±0.56}	5.11 ^{±0.33}	5.48 ^{±0.40}	6.20 ^{±0.40}
Proteína*	45.31 ^{±0.56}	45.57 ^{±0.11}	48.29 ^{±0.27}	49.11 ^{±0.48}	48.43 ^{±0.43}	49.75 ^{±0.33}	49.64 ^{±0.64}	50.18 ^{±0.21}
Fibra	16.01 ^{±0.92}	16.45 ^{±0.41}	17.00 ^{±0.60}	17.26 ^{±0.31}	17.30 ^{±0.33}	17.60 ^{±0.43}	18.93 ^{±0.91}	18.74 ^{±0.27}
Hidratos de carbono**	10.14 ^{±1.05}	11.78 ^{±1.15}	22.61 ^{±1.19}	24.06 ^{±0.73}	4.44 ^{±0.71}	5.73 ^{±0.29}	19.05 ^{±1.29}	21.16 ^{±0.71}

Resultados en base seca. Los datos reportados son el promedio de 3 mediciones. HE=Harina entera, HD=Harina desmineralizada, 40 y 80 tamaño de partícula: 0.42 mm y 0.150-0.177 mm, respectivamente. * Factor de conversión de nitrógeno a proteína de 5.4, ** se determinó por diferencia.

La disminución del tamaño de partícula de las harinas enteras y desmineralizadas (malla 80 en vez de malla 40) aumentó el porcentaje entre los componentes químicos (grasa, proteína, fibra e hidratos de carbono.) siendo significativo este aumento a una significancia del 0.05 para el contenido de proteínas. Mientras que para el contenido de cenizas se observó una disminución significativo ($p < 0.05$).

La mayor desmineralización se presentó en las harinas con un tamaño de partícula de malla 80 para ambas especies. Esto indica que con la metodología reportada por García (2008) se logró desmineralizar en gran parte la harina, lo cual facilitó la extracción del pigmento, ya que en estudios previos de Alarcón (2011) y de García *et al.* (1999) se ha encontrado que al desmineralizar la harina es posible la obtención de una mayor cantidad de pigmentos carotenoides (astaxantina), por lo que con ello, en esta investigación se descartó el trabajar con harina entera y se trabajó únicamente con las harinas desmineralizadas.

4.2. Cuantificación de los pigmentos carotenoides (astaxantina) extraídos

Para determinar la concentración de los pigmentos extraídos de la harina del cefalotórax de camarón, se utilizó una curva de calibración (Anexo 2) de la astaxantina utilizando aceite de girasol que, de acuerdo con lo reportado por Sachindra y Mahendrakar (2005), se obtienen una mayor concentración de pigmentos (Tabla 12).

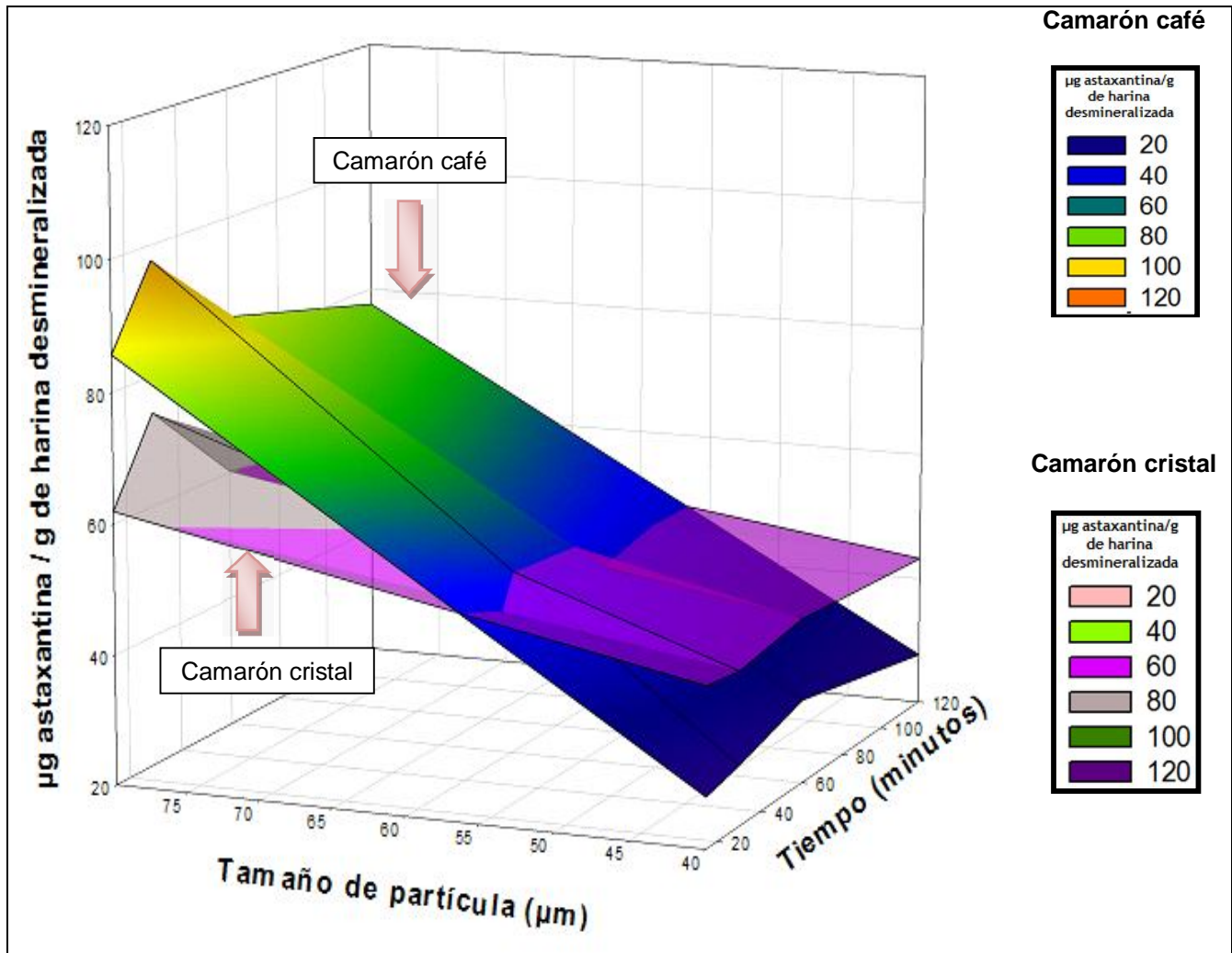
Tabla 12: Concentración de los pigmentos carotenoides (astaxantina) extraídos de la harina desmineralizada de cefalotórax de camarón café y camarón cristal con un tamaño de malla de 40 y 80 bajo diferentes tiempos de extracción

Tiempo (min)	HD _{C.a40}	HD _{C.a80}	HD _{C.r40}	HD _{C.r80}
15	27.74±0.77	85.63±5.99	44.20±1.25	61.91±3.19
30	29.18±0.01	97.69±2.28	43.3±0.03	74.35±0.04
60	32.75±0.02	84.50±0.05	45.28±0.02	60.20±0.01
120	27.68±0.21	77.45±0.04	43.25±0.05	55.63±0.01

Los resultados reportados son el promedio de 3 mediciones y se encuentran en µg de astaxantina/g de harina desmineralizada

De los resultados obtenidos de la Tabla 12 y mediante el análisis de varianza multifactorial realizado con un nivel de significancia del 0.05 (Anexo 3), se encontró la existencia de diferencias significativas para todos los factores analizados (tiempo de extracción, tamaño de partícula y de especie), así como la interacción entre el tiempo-tamaño de partícula y especie-tamaño de partícula. En el Gráfico 1 se presenta la gráfica de superficie de respuesta en 3D, de la extracción de astaxantina de la harina desmineralizada de cefalotórax de camarón, en la que se muestra el efecto de la extracción de los pigmentos carotenoides (astaxantina) en función del tamaño de partícula, del tiempo de extracción y de la especie.

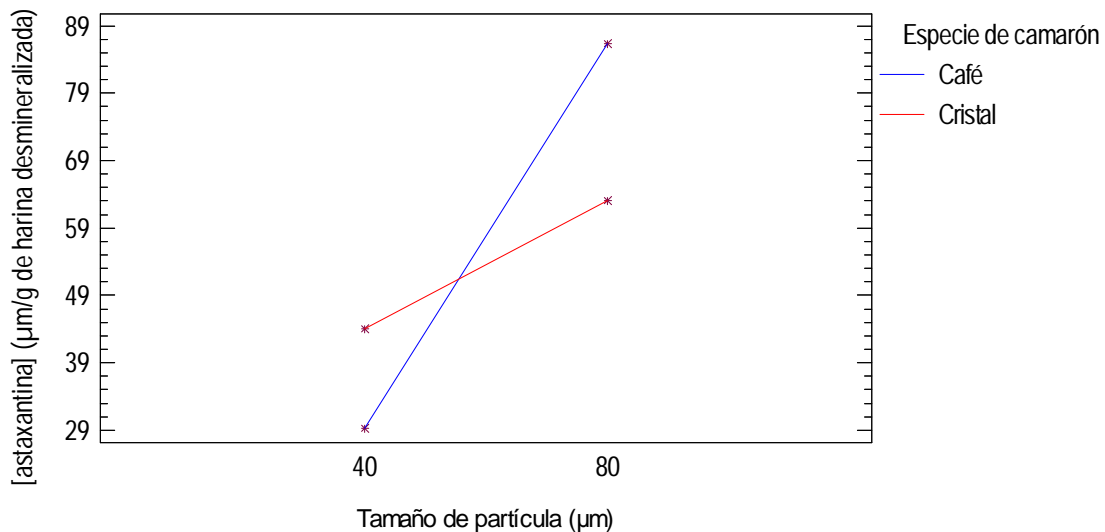
Como se puede observar en la gráfica 3D en cuanto a la harina desmineralizada del cefalotórax de camarón café, la concentración de astaxantina aumentó conforme cambió de coloración azul a amarillo, mientras que para la harina desmineralizada de cefalotórax de camarón cristal aumentó de morado a gris. Por tanto, las mejores condiciones de extracción fueron: Para la especie de camarón café de tamaño de partícula de malla 80 y un tiempo de extracción de 30 minutos obteniéndose 97.69 µg de pigmentos carotenoides (astaxantina) por gramo de harina.



Gráfica 1: Gráficas de superficie de respuesta de la extracción de pigmentos carotenoides (astaxantina) de harina desmineralizada de cefalotórax de camarón café y cristal

De la misma manera, es posible observar que el rendimiento de astaxantina se vio incrementado al aumentarse el tiempo de extracción tanto para un tamaño de partícula de malla 40 como para uno de malla 80 hasta los 60 y 30 minutos de extracción respectivamente, después de los cuales disminuyeron los rendimientos entre ambas especies debido a que la astaxantina, como muchos de los carotenoides, es sensible al calor (Pu *et al.*, 2010), por lo que con un mayor tiempo de extracción la astaxantina y sin contar con un antioxidante sintético es degradada, esto explica la interacción que presentan los factores: tamaño de partícula-tiempo de extracción, ya que para obtener el mayor rendimiento con harina de tamaño de partícula de malla 80 se necesitan 30 minutos de extracción, mientras que para obtener un mayor rendimiento con un tamaño de partícula de malla 40 se necesitarán 60 minutos de extracción. El hecho de que para un tamaño de

partícula de malla 40 se necesite un mayor tiempo de extracción se debe a la superficie de contacto que, al ser menor, necesita de un mayor tiempo de extracción que con una harina de tamaño de partícula de malla 80.



Gráfica 2: Interacción entre los factores especie de camarón y tamaño de partícula

Como se puede apreciar en las Gráficas 1 y 2, la interacción de los parámetros tamaño de partícula y especie hace que se obtenga una mayor concentración de astaxantina para la harina de camarón café con un tamaño de partícula de malla 80, mientras que con un tamaño de partícula de malla 40 para la misma especie, se obtiene una menor concentración.

En cuanto al contenido de carotenoides (astaxantina) de las diferentes especies estudiadas, se puede observar en la Gráfica 1 que el camarón café presentó un mayor rendimiento que el camarón cristal, observándose diferencias significativas entre ambas especies. Sin embargo, estos resultados no eran los que se esperaban ya que aunque la coloración del camarón cristal es gris azulado (Imagen 14), no significa que no se encontrara presente la astaxantina sino que ésta se encuentra formando un complejo específico carotenoide-proteína (α -crustacianina).



Imagen 14: Pigmentos extraídos del cefalotórax de camarón café (ca) y camarón cristal (cr). De izquierda a derecha: HDca80, HDca40, HDcr80 y HDcr40. HD=Harina desmineralizada, mallas 80 y 40 = Tamaño de partícula

La α -crustacianina contiene el carotenoide astaxantina unido estequiométricamente pero no de manera covalente a la apoproteína (Weesie *et al.*, 1995), la cual es desnaturizada reversible o irreversiblemente bajo la presencia de ácidos, solventes orgánicos o con calor para dar diferentes productos: púrpura, amarillo o rojo, dependiendo del carotenoide al cual se encuentre unida a la proteína (Jencks y Buten, 1964). Por ende, al someter las harinas del cefalotórax de camarón cristal a 80°C durante su extracción, la α -crustacianina se desnaturiza obteniéndose la astaxantina libre (North, 2002), de tal manera que el rendimiento bajo en esta especie de camarón puede deberse en gran parte a que generalmente el camarón cristal es descabezado cuando ya tiene mucho tiempo de almacenamiento (debido a que es más pequeño), por lo cual las cabezas presentan un fenómeno de origen enzimático conocido como “melanosis”, el cual es una mancha negra que se produce en la superficie del camarón y que, a diferencia de los pigmentos normales del camarón, no cambian de color durante la cocción (permaneciendo oscuros) y contrastando con la coloración roja de los otros, como se observa en la Imagen 14. Los pigmentos extraídos del camarón cristal presentaron una coloración naranja oscura, por lo que podría contener compuestos que se forman durante la melanosis (Flores, 2001).

4.3. Identificación de los pigmentos carotenoides (astaxantina) obtenidos del cefalotórax de camarón

La identificación de los pigmentos carotenoides extraídos de la harina de cefalotórax de camarón café, se realizó por medio de cromatografía en placa fina (TLC) en la cual se determinó el factor de retención (Rf) del pigmento extraído, comparándose con un estándar

utilizando astaxantina comercial. Los resultados obtenidos se muestran a continuación en la Tabla 13.

Tabla 13. Identificación del pigmento extraído del cefalotórax de camarón café por medio de cromatografía en capa fina (ccf)

Muestras analizadas	Rf obtenido	Presunta Identificación
Estándar (astaxantina comercial)	0.38 ^{±0.014}	Astaceno
Pigmento extraído	0.415 ^{±0.007}	Astaxantina
Astaxantina (literatura)	0.41	Astaxantina

Los resultados obtenidos son el promedio de dos mediciones

Al correr la cromatografía en capa fina de las muestras se observó que el pigmento extraído se desplazaba un poco más que el de referencia.

Esto pudo deberse a que los disolventes empleados (éter de petróleo y acetona) para realizar la muestra no eran grado cromatográfico y/o, en su defecto, el estándar pudiera presentar un poco de degradación ya que presenta un Rf de 0.38 encontrándose en la literatura que este valor corresponde al astaceno, el cual es la forma oxidada de la astaxantina (García *et al.*, 1999).

4.4. Efecto de las condiciones de almacenamiento (luz, oxígeno y temperatura) en la degradación de la astaxantina y oxidación lipídica de los pigmentos extraídos en el aceite de girasol

4.4.1. Degradación de los pigmentos carotenoides (astaxantina)

La astaxantina es sensible a los factores físicos como la temperatura, el oxígeno y la luz debido a su estructura insaturada (Pu *et al.*, 2010), por lo que para determinar su degradación se determinó el efecto que tendrían estos factores en la concentración de la astaxantina extraída en el aceite al ser almacenado bajo estas condiciones. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 14.

Tabla 14. Resultados de la degradación de los pigmentos carotenoides (astaxantina) en $\mu\text{g/g}$ de harina bajo diferentes condiciones de almacenamiento

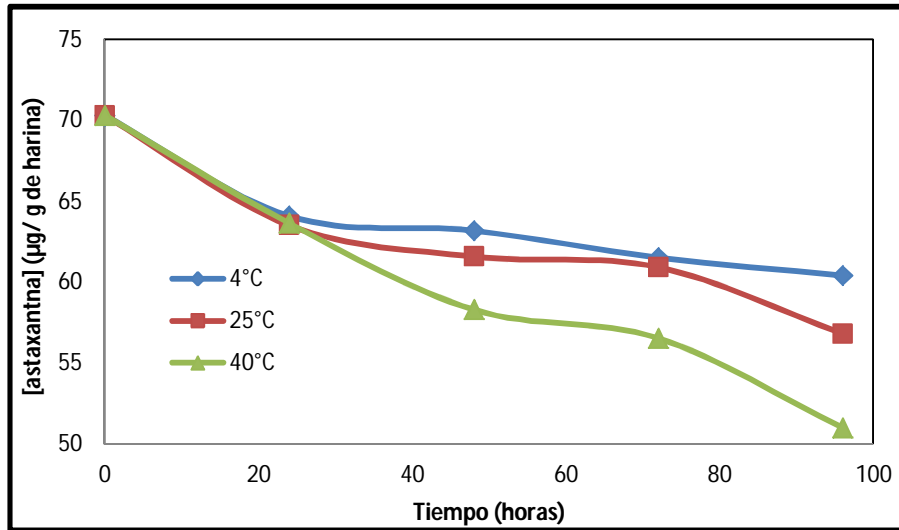
Días	4°C	25°C	40°C	4°C/O ₂	25°C/O ₂	5°C/Luz	25°C/ Luz	25°C/ Luz y O ₂
0	70.31 ^{±0.06}	70.31 ^{±0.06}	70.31 ^{±0.06}	70.31 ^{±0.06}	70.31 ^{±0.06}	70.31 ^{±0.06}	70.31 ^{±0.06}	70.31 ^{±0.06}
1	64.08 ^{±0.04}	63.51 ^{±0.06}	63.64 ^{±0.01}	63.73 ^{±0.03}	60.65 ^{±0.06}	63.93 ^{±0.04}	61.88 ^{±0.07}	61.24 ^{±0.03}
2	63.17 ^{±0.03}	61.57 ^{±0.04}	58.29 ^{±0.04}	61.29 ^{±0.06}	59.17 ^{±0.06}	61.84 ^{±0.04}	60.31 ^{±0.06}	49.48 ^{±0.16}
3	61.52 ^{±0.06}	60.92 ^{±0.03}	56.53 ^{±0.01}	59.00 ^{±0.03}	57.25 ^{±0.01}	60.61 ^{±0.01}	59.37 ^{±0.03}	43.15 ^{±0.03}
4	60.40 ^{±0.03}	56.81 ^{±0.04}	50.99 ^{±0.01}	57.37 ^{±0.22}	51.43 ^{±0.04}	60.11 ^{±0.01}	53.59 ^{±0.03}	41.98 ^{±0.11}

Los resultados reportados son el promedio de tres mediciones experimentales

Durante la realización del experimento fue difícil controlar los factores de luz y oxígeno a la temperatura de 40°C por lo que, para realizar el análisis estadístico de la degradación de astaxantina y la oxidación lipídica del pigmento, se utilizó el Modelo General Lineal (MGL) (Anexos 4 y 5), debido a que este modelo permite analizar diseños experimentales desbalanceados. En este apartado sólo se hablará de los resultados obtenidos de la degradación de la astaxantina y en el siguiente apartado se expondrán los resultados obtenidos de la oxidación lipídica.

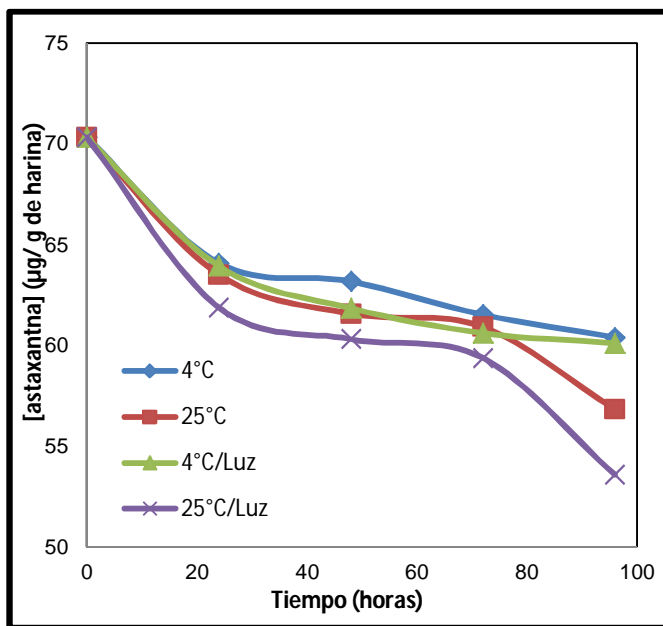
De los resultados obtenidos del MGL se encontró un ajuste del modelo de la degradación de la astaxantina y las variables independientes de un 77.17% (R^2 ajustado), verificándose que este modelo lineal se ajustó con los datos obtenidos de la degradación de la astaxantina mediante el análisis de residuales obteniéndose un valor de un error absoluto medio (MAE, por sus siglas en inglés) de 2.48, el cual indica que entre menor sea el coeficiente mejor es el ajuste del modelo, así como también una gráfica de residuales en la cual estas se encontraron distribuidos homogéneamente (Anexo 4) por lo que este tipo de modelo pudo utilizarse para explicar la variabilidad de la degradación de la astaxantina.

En las Gráficas 3 a 5 se muestra el efecto de las condiciones de almacenamiento (Temperatura, luz y oxígeno en función del tiempo). De acuerdo con los resultados del MGL (Anexo 4), se encontró que la degradación de la astaxantina fue afectada significativamente, por la temperatura, la presencia de oxígeno, la presencia de luz y con el paso del tiempo de almacenamiento.

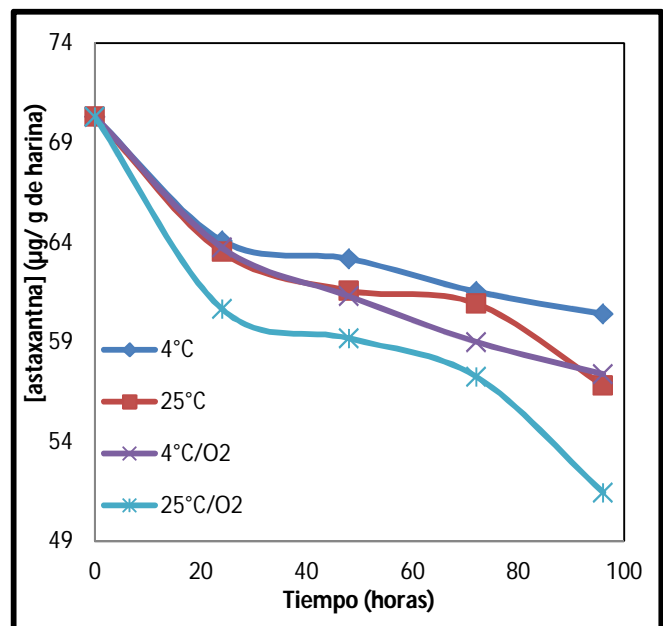


Gráfica 3: Efecto de la temperatura en la degradación de los pigmentos carotenoides (astaxantina)

En la Gráfica 3 se puede apreciar que; la degradación de la astaxantina resultó mayor al incrementar la temperatura de almacenamiento disminuyendo un 27.47% a una temperatura de almacenamiento de 40°C, mientras que en el caso del pigmento almacenado a las temperaturas de 4 y 25°C no se observó ninguna variación grande en la degradación de la astaxantina entre dichas temperaturas de almacenamiento.



Gráfica 4: Efecto de la luz en la degradación de los pigmentos carotenoides (astaxantina)



Gráfica 5: Efecto del oxígeno en la degradación de los pigmentos carotenoides (astaxantina)

En las Gráficas 4 y 5 se aprecia que la degradación de la astaxantina aumentó significativamente cuando el pigmento fué almacenado en presencia de luz y oxígeno, presentándose una mayor degradación de la astaxantina en presencia del oxígeno, ya que se observó a una temperatura de 4°C una disminución en un 18.41% mientras que a 25°C se tuvo una disminución de 26.85%, mientras que en presencia de luz a una temperatura de 4°C la disminución fue de un 14.5%, mientras que 25°C fue de 23.78%. Por tanto, se comprueba que la presencia del oxígeno y las altas temperaturas deben ser controladas para mantener por más tiempo la calidad del pigmento.

4.4.2. Oxidación lipídica (formación de peróxidos) en el aceite pigmentado bajo diferentes condiciones de almacenamiento

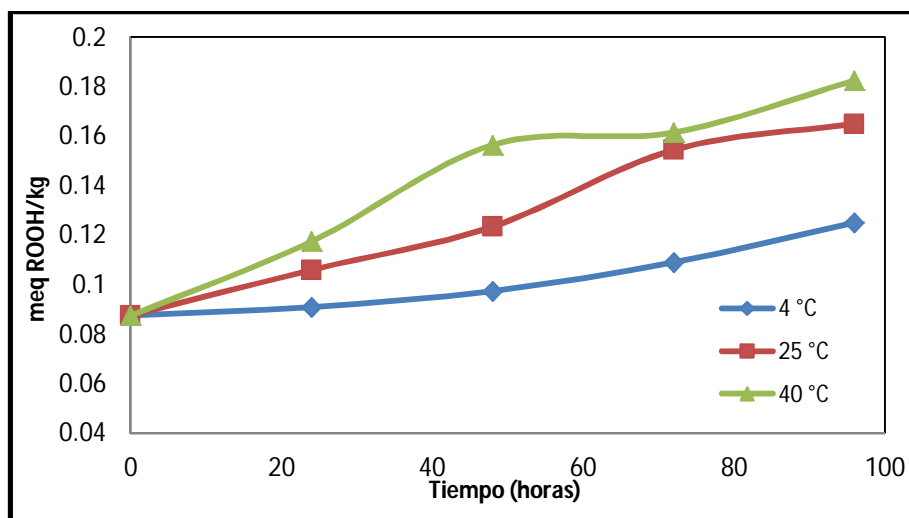
La extracción de los pigmentos carotenoides (astaxantina) se llevó a cabo mediante un proceso térmico, siendo el aceite susceptible a la oxidación, por lo que en esta investigación se analizó la formación de hidroperóxidos en el aceite pigmentado durante su almacenamiento así como también se analizaron el efecto de la luz y del oxígeno en el aceite pigmentado. Los resultados obtenidos se aprecian a continuación en la Tabla 15. Mediante el modelo general lineal (MGL) se encontró que el ajuste de la oxidación lipídica del pigmento con las variables independientes fue del 77.27% (R^2 ajustado), verificándose que el modelo lineal se ajustó a los datos obtenidos de la oxidación del pigmento mediante el análisis de residuales, obteniéndose un error absoluto medio (*MAE*) de 0.018, así como también una gráfica de residuales en la cual estos últimos se encontraron distribuidos homogéneamente (Anexo 5), por lo que este modelo puede utilizarse para explicar la variabilidad de la oxidación lipídica de los pigmentos carotenoides (astaxantina).

Tabla 15. Formación de hidroperóxidos (meq ROOH/kg) de los pigmentos extraídos bajo diferentes condiciones de almacenamiento

Días	4°C	25°C	40°C	4°C/O ₂	25°C/O ₂	Luz/ 4°C	Luz/ 25°C	25°C/ Luz y O ₂
1	0.087 ^{±0.003}	0.087 ^{±0.003}	0.087 ^{±0.003}	0.087 ^{±0.003}	0.087 ^{±0.003}	0.087 ^{±0.003}	0.087 ^{±0.003}	0.087 ^{±0.003}
2	0.091 ^{±0.002}	0.106 ^{±0.002}	0.117 ^{±0.006}	0.098 ^{±0.001}	0.142 ^{±0.005}	0.093 ^{±0.001}	0.125 ^{±0.002}	0.154 ^{±0.010}
3	0.097 ^{±0.0007}	0.123 ^{±0.01}	0.156 ^{±0.0007}	0.109 ^{±0.010}	0.157 ^{±0.01}	0.108 ^{±0.004}	0.141 ^{±0.004}	0.225 ^{±0.004}
4	0.109 ^{±0.002}	0.154 ^{±0.0007}	0.161 ^{±0.0007}	0.122 ^{±0.007}	0.177 ^{±0.003}	0.115 ^{±0.004}	0.154 ^{±0.001}	0.234 ^{±0.019}
5	0.125 ^{±0.008}	0.165 ^{±0.001}	0.182 ^{±0.004}	0.141 ^{±0.004}	0.204 ^{±0.026}	0.124 ^{±0.005}	0.163 ^{±0.002}	0.346 ^{±0.007}

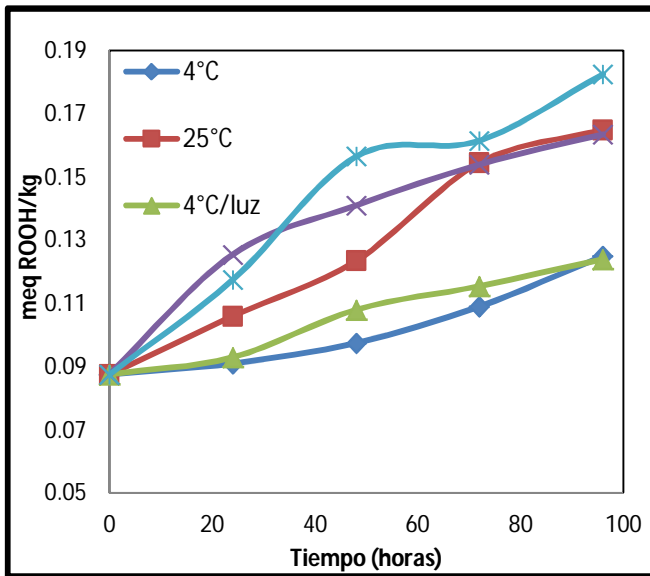
Los resultados reportados son el promedio de tres determinaciones

El efecto de la temperatura se aprecia en la Gráfica 6, observándose que la formación de hidroperóxidos se incrementó al aumentarse la temperatura de almacenamiento, siendo mayor el efecto presentado a 40°C aumentando un 52.1% de su valor inicial.

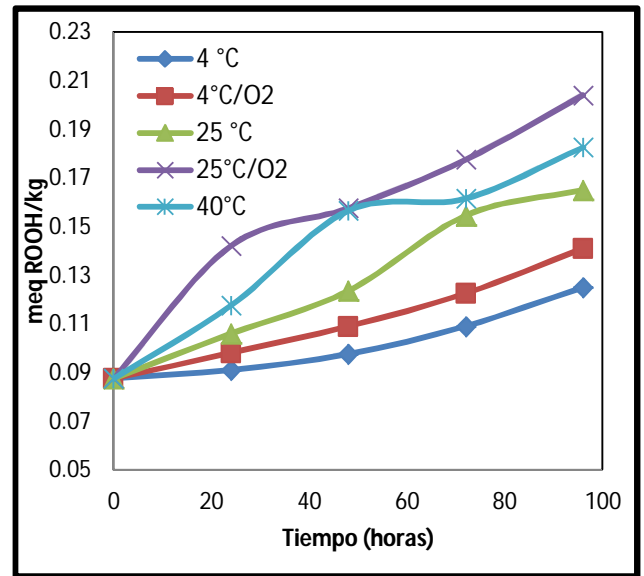


Gráfica 6: Efecto de la temperatura en la oxidación lipídica de los pigmentos carotenoides (astaxantina)

En las Gráficas 7 y 8 se muestra el efecto de las condiciones de almacenamiento en la oxidación lipídica del pigmento encontrándose que, de acuerdo con los resultados del MGL (Anexo 5) la oxidación lipídica de los pigmentos se vió afectada significativamente por la temperatura, la presencia de oxígeno y la presencia de luz, siendo la presencia de oxígeno el factor que incrementó en mayor medida la formación de hidroperóxidos, aumentando la formación de hidroperóxidos a una temperatura de 4°C en un 38% y a 25°C en un 57.37% de su valor inicial, mientras que, cuando fue expuesto sólo a la presencia de la luz aumentó, a 4°C un 29.8% y a 25°C un 46.6% de su valor inicial.



Gráfica 7: Efecto de la luz en la oxidación lipídica de los pigmentos carotenoides (astaxantinas)



Gráfica 8: Efecto del oxígeno en la oxidación lipídica de los pigmentos carotenoides (astaxantinas)

Como se puede observar en la Gráfica 8 la oxidación lipídica del pigmento almacenado a 25°C en presencia del oxígeno fue más rápida que cuando se almacena a 40°C al resguardo del oxígeno por lo que, para mantener por más tiempo la calidad del pigmento extraído del cefalotórax de camarón, es importante mantenerlo al resguardo de estos factores.

4.4.3. Parámetros cinéticos de la oxidación y degradación de los pigmentos carotenoides (astaxantina)

Los parámetros cinéticos de la degradación y oxidación lipídica de los pigmentos carotenoides (astaxantina) se obtuvieron mediante la regresión lineal de la [astaxantina], \ln [astaxantina] y $1/[astaxantina]$ en función del tiempo. Los valores de R^2 fueron obtenidos para la cinética de orden cero y de primer y de segundo orden de reacción. Para la degradación de los pigmentos carotenoides (astaxantina) el modelo utilizado fue el que se ajustó a una cinética de primer orden de reacción a las temperaturas de 5 a 40°C, tanto para las condiciones de almacenamiento con oxígeno así como ante la presencia de luz. La oxidación lipídica del pigmento se ajustó, tanto a una reacción de orden cero (en presencia de oxígeno y luz) como a una de primer orden para la oxidación lipídica de 4 a 40°C. Los parámetros cinéticos obtenidos de la degradación y oxidación de la astaxantina se muestran en la Tabla 16.

Tabla 16. Cinética de orden cero y primer orden para la degradación de los pigmentos carotenoides (astaxantina) y la oxidación lipídica de los pigmento extraído

Condición de almacenamiento	T (°C)	Degradación			Oxidación lipídica		
		R ²	k (s ⁻¹)	Ea (kJ/mol)	k (meqkg ⁻¹ h ⁻¹) *k(s ⁻¹)	R ²	Ea (kJ/mol)
Temperatura	4	0.85	4x10 ⁻⁷		*1x10 ⁻⁶	0.95	
	25	0.90	5x10 ⁻⁷	15.44	*2x10 ⁻⁶	0.98	14.69
	40	0.97	9x10 ⁻⁷		*2x10 ⁻⁶	0.90	
Luz	4	0.82	4x10 ⁻⁷		1x10 ⁻⁷	0.98	
	25	0.89	7x10 ⁻⁷	18.31	2x10 ⁻⁷	0.91	22.68
O ₂	4	0.93	6x10 ⁻⁷		2x10 ⁻⁷	0.99	
	25	0.91	8x10 ⁻⁷	9.42	3x10 ⁻⁷	0.87	13.27

*Indica que la reacción es de primer orden

Mediante un análisis de varianza multifactorial de la velocidad de degradación de la astaxantina y de la oxidación lipídica del pigmento (Anexo 6 y 7, respectivamente), se encontró que al exponer el pigmento a la luz y al oxígeno, la velocidad de degradación y oxidación aumentaron significativamente para las dos temperaturas de almacenamiento (4 y 25°C), siendo mayor cuando fué expuesta al oxígeno. Sin embargo, la velocidad de oxidación fue aún más rápida cuando el pigmento fue almacenado a 40°C. En cuanto a la temperatura de almacenamiento se encontró que la velocidad de reacción fue significativamente más rápida cuando se aumentó la temperatura. Los resultados de la degradación de la astaxantina obtenidos en esta investigación difieren de los publicados por Pu *et al.*, 2010, en donde se reportan valores de $k = 0.21 \text{ h}^{-1}$ y de $K = 0.58 \text{ h}^{-1}$ para 30 y 40°C, respectivamente, siendo estas velocidades de reacción más rápidas que las que se encontraron en esta investigación. Esto podría deberse a las diferentes metodologías de extracción utilizadas, ya que este autor realizó la extracción en baño maría durante 60 minutos a 60°C, mientras que en esta investigación se realizó en parrilla con agitación constante durante 30 minutos a 80°C.

La astaxantina en el camarón se encuentra principalmente de tres formas: 1) formando un complejo con proteínas, 2) como astaxantina esterificada mediante lípidos y 3) como astaxantina de manera no esterificada (astaxantina libre), siendo la astaxantina no esterificada más susceptible a la oxidación que la esterificada (Niammuy *et al.*, 2008).

Los autores anteriores reportaron valores de la velocidad de reacción para la degradación de la astaxantina más altos cuando las cabezas de camarón fueron secadas a 80°C, como se

realizó en esta investigación. Esto se debe a que al secar el camarón a 80°C toma más tiempo que a otras temperaturas, por lo que esto da más tiempo para la hidrólisis de la astaxantina esterificada, que tiene una baja estabilidad a la oxidación.

En la Tabla 16 se muestra la energía de activación (E_a) de las diferentes condiciones de almacenamiento (cabe recordar que a menores valores de la energía de activación la velocidad para que se lleve a cabo la reacción es más rápida y viceversa), encontrándose mediante un análisis de varianza, andeva (ANOVA) que cuando el pigmento fué almacenado en presencia de oxígeno, la degradación de la astaxantina y la oxidación de la astaxantina (Anexos 6 y 7, respectivamente) fue significativamente menor (9.42 y 13.27 kJ/mol, respectivamente), que cuando fué expuesta a la presencia de la luz. Esto quiere decir que se necesita una menor energía para que el aceite pigmentado sea oxidado (formación de hidroperóxidos).

Por otro lado, la degradación de los pigmentos carotenoides (astaxantina) necesitó una menor energía de activación que como lo fue para el caso de la formación de hidroperóxidos en presencia de oxígeno. Esto podría deberse a que como ya se mencionó en el Capítulo 2, la astaxantina confiere un efecto antioxidante compitiendo con el sustrato (lípidos) por las especies radicales (Pokorny *et al.*, 2001), por lo cual termina con las reacción en cadena de la oxidación de los lípidos y, por tanto, la formación de los hidroperóxidos se produce de una manera más lenta, de tal suerte que la astaxantina podría proporcionar un efecto antioxidante al aceite.

4.5. Efecto antioxidante de los pigmentos en el aceite de girasol

Sánchez *et al.* (2012) y Pu *et al.* (2010) encontraron que la astaxantina presenta actividad antioxidante, por lo que se comparó el efecto antioxidante que proporcionan los pigmentos carotenoides (astaxantina) en el aceite de girasol cuantificando la formación de hidroperóxidos (oxidación del aceite), tanto en los pigmentos extraídos como en el aceite de girasol utilizado como referencia (sin la adición de pigmentos). Los resultados obtenidos se aprecian en la Tabla 17.

Tabla 17: Oxidación lipídica de los pigmentos carotenoides (astaxantinas) extraídos en aceite de girasol y del aceite de girasol sin pigmentos carotenoides adicionados

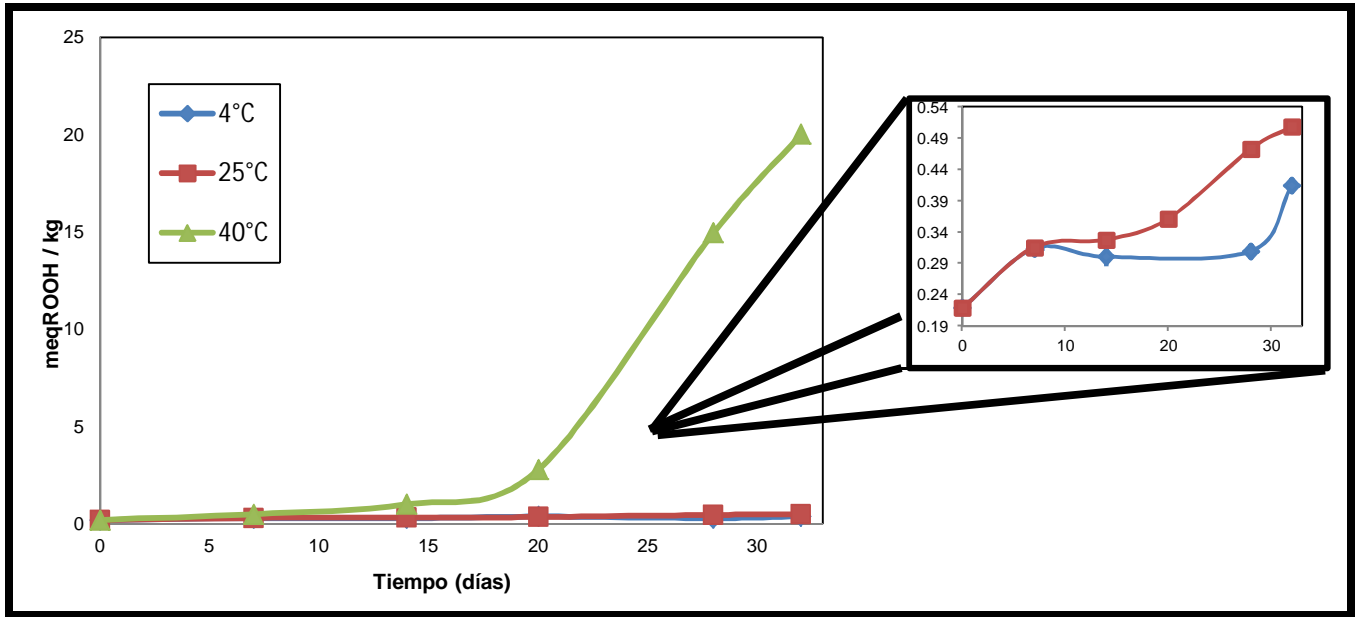
Tiempo (días)	Aceite de girasol <u>con</u> pigmentos carotenoides (meq ROOH/kg de grasa)			Aceite de girasol <u>sin</u> pigmentos carotenoides (meq ROOH/kg de grasa)		
	5°C	25°	40°C	5°C	25°C	40°C
	0	0.085 ^{±0.08}	0.085 ^{±0.08}	0.085 ^{±0.08}	0.219 ^{±0.04}	0.219 ^{±0.04}
7	0.132 ^{±0.01}	0.148 ^{±0.007}	0.232 ^{±0.03}	0.313 ^{±0.01}	0.315 ^{±0.04}	0.509 ^{±0.01}
14	0.165 ^{±0.005}	0.193 ^{±0.001}	0.356 ^{±0.03}	0.300 ^{±0.09}	0.328 ^{±0.01}	1.012 ^{±0.08}
20	0.175 ^{±0.005}	0.253 ^{±0.003}	0.653 ^{±0.02}	0.387 ^{±0.003}	0.361 ^{±0.001}	2.801 ^{±0.05}
28	0.175 ^{±0.005}	0.283 ^{±0.003}	1.335 ^{±0.03}	0.309 ^{±0.01}	0.472 ^{±0.06}	14.961 ^{±0.27}
32	0.230 ^{±0.004}	0.334 ^{±0.009}	1.951 ^{±0.05}	0.414 ^{±0.002}	0.508 ^{±0.01}	20.029 ^{±0.18}

Los resultados reportados son el promedio de tres mediciones

De manera general, la formación de hidroperóxidos durante la oxidación de las grasas presenta un comportamiento del tipo de una campana de Gauss debido a que los hidroperóxidos formados posteriormente son degradados a compuestos no radicales como lo serían los aldehídos o las cetonas, donde existe un periodo de inducción (PI) en el cual la formación de hidroperóxidos es lenta. Al termino de este PI se presenta un deterioro oxidativo mucho más rápido (Pokorny *et al.*, 2001) habiendo un aumento pronunciado en la formación de hidroperóxidos. En la Gráfica 9 se muestra la formación de hidroperóxidos del aceite de girasol sin pigmentos (referencia) en función del tiempo, apreciándose un aumento en la formación de hidroperóxidos al incrementarse la temperatura, observándose que a 40°C el aumento se pronunció a partir del día 28 (14.96 meq ROOH/ kg de grasa) mientras que, a las temperaturas de 4°C y 25°C (0.41 y 0.50 meq ROOH/ kg de grasa, respectivamente), el aumento no resultó tan drástico por lo que, al aumentar la temperatura a 40°C, el PI disminuyó. Para el aceite de girasol con pigmentos carotenoides (Gráfica 10) no se observa este aumento tan pronunciado aún a la temperatura de 40°C.

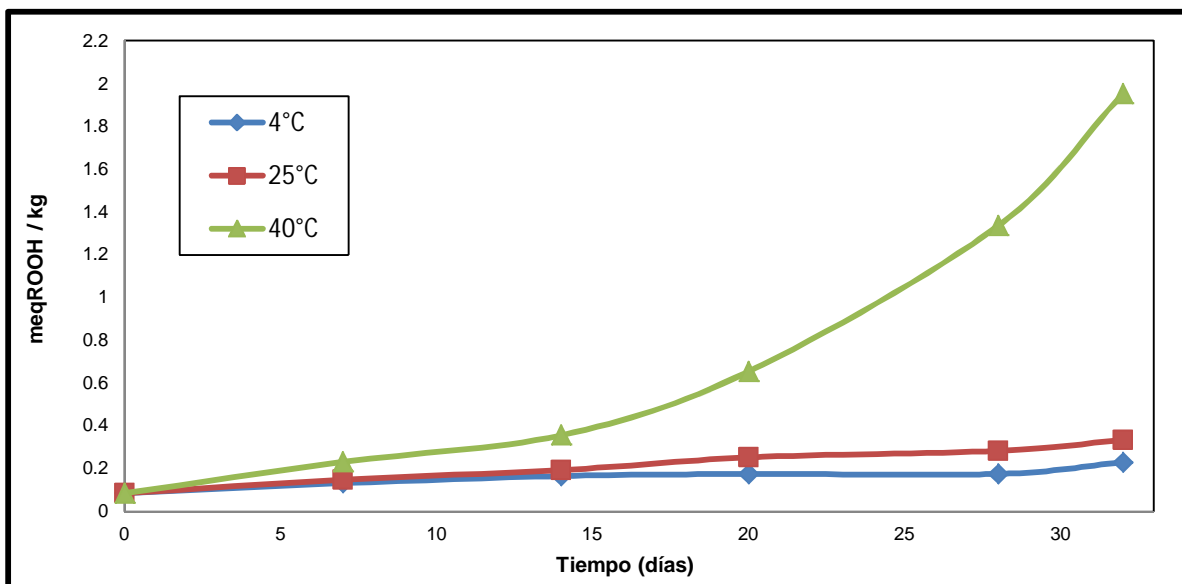
Mediante un análisis de varianza factorial (Anexo 8), se encontró que la temperatura, el tiempo y la presencia de pigmentos carotenoides (astaxantinas) en el aceite de girasol afectaron de manera significativa ($p < 0.05$) la formación de hidroperóxidos, sin encontrarse ninguna interacción entre los factores.

Mediante la prueba de rango múltiple (Anexo 8) se encontró que la formación de hidroperóxidos fue significativa sólo cuando la muestra fue almacenada a 40°C, aún para la muestra con antioxidante.



Gráfica 9: Cuantificación de hidroperóxidos del aceite de girasol

Sin embargo la presencia de los pigmentos carotenoides (astaxantina) hace que el periodo de inducción del pigmento aumente, como se puede apreciar en la Gráfica 10 en la cual la máxima cantidad de hidroperóxidos formados fue de 1.95 meq ROOH/kg de aceite, mientras que para la muestra que no contuvo antioxidante llegó hasta 20.02 meq ROOH/kg de aceite (Gráfica 9). Por tanto, la presencia de pigmentos carotenoides (astaxantina) le confirió un efecto antioxidante al aceite aunado al color.



Gráfica 10: Cuantificación de hidroperóxidos del pigmento extraído del cefalotórax de camarón

En cuanto a las temperaturas de almacenamiento de 4 y 25°C se encontró que no afectaron significativamente ($p < 0.05$) la formación de hidroperóxidos en el aceite tanto con pigmento como sin él, ya que aunque se llevó a cabo un tratamiento térmico en el aceite de girasol, éste se encuentra protegido contra promotores de la oxidación, en este caso la temperatura. Esto se debe a la presencia de agentes antioxidantes que se encuentran de manera natural en los aceites comestibles, por lo que para que el deterioro oxidativo sea significativo se requieren de temperaturas mayores a los 25°C.

4.6. Vida de anaquel de los pigmentos extraídos (astaxantina) en el aceite de girasol

La vida de anaquel del pigmento se determinó bajo condiciones de almacenamiento a diferentes temperaturas. Debido a la naturaleza del producto a analizar (pigmento extraído en aceite de girasol), se seleccionó como característica de calidad la degradación de los pigmentos carotenoides (astaxantina) y la formación de los hidroperóxidos utilizando el modelo de la degradación cinética para predecir la pérdida de los parámetros de calidad, el cual se obtiene mediante la Ecuación 1:

$$t = \ln \left(\frac{D_0}{D_T} \right) / k \quad \text{Ecuación 1}$$

donde:

D_0 = valor promedio del factor de calidad al tiempo cero

D_T = valor promedio después de la reacción de deterioro al tiempo (t)

k = constante de velocidad

ln = logaritmo natural

Los valores obtenidos de la degradación y formación de hidroperóxidos durante los 32 días de evaluación se muestran en la Tabla 18.

Tabla 18: Formación de hidroperóxidos y degradación de los pigmentos carotenoides (astaxantina) durante almacenamiento del pigmento extraído

Tiempo (días)	D _{astx} (µg/g)			FP (meq ROOH/kg)		
	4 °C	25 °C	40 °C	4 °C	25 °C	40 °C
0	60.30 ^{±0.01}	60.30 ^{±0.01}	60.30 ^{±0.01}	0.085 ^{±0.0002}	0.085 ^{±0.0002}	0.085 ^{±0.0002}
7	59.29 ^{±0.03}	51.61 ^{±0.01}	50.73 ^{±0.08}	0.132 ^{±0.01}	0.148 ^{±0.007}	0.232 ^{±0.003}
14	52.31 ^{±0.03}	50.51 ^{±0.03}	49.86 ^{±0.03}	0.165 ^{±0.005}	0.193 ^{±0.012}	0.356 ^{±0.031}
20	50.82 ^{±0.13}	49.82 ^{±0.03}	48.09 ^{±0.01}	0.175 ^{±0.0005}	0.253 ^{±0.003}	0.653 ^{±0.024}
28	50.28 ^{±0.01}	48.77 ^{±0.03}	47.40 ^{±0.09}	0.175 ^{±0.005}	0.283 ^{±0.003}	1.335 ^{±0.031}
32	50.15 ^{±0.06}	48.04 ^{±0.07}	46.95 ^{±0.03}	0.230 ^{±0.004}	0.334 ^{±0.009}	1.951 ^{±0.057}

D_{astx}= Degradación de los pigmentos carotenoides (astaxantina), FP= Formación de hidroperóxidos

En la Tabla 19 se muestran las ecuaciones utilizadas para determinar la vida de anaquel de los dos factores (degradación de la astaxantina y formación de hidroperóxidos), así como la vida de anaquel del pigmento bajo diferentes temperaturas de almacenamiento para los dos parámetros cuantificados. Se observa que, a temperatura de refrigeración (4°C), se mantuvo por más tiempo la calidad del producto.

Tabla 19: Vida de anaquel del pigmento con base en la degradación de los pigmentos carotenoides (astaxantina) y la formación de hidroperóxidos

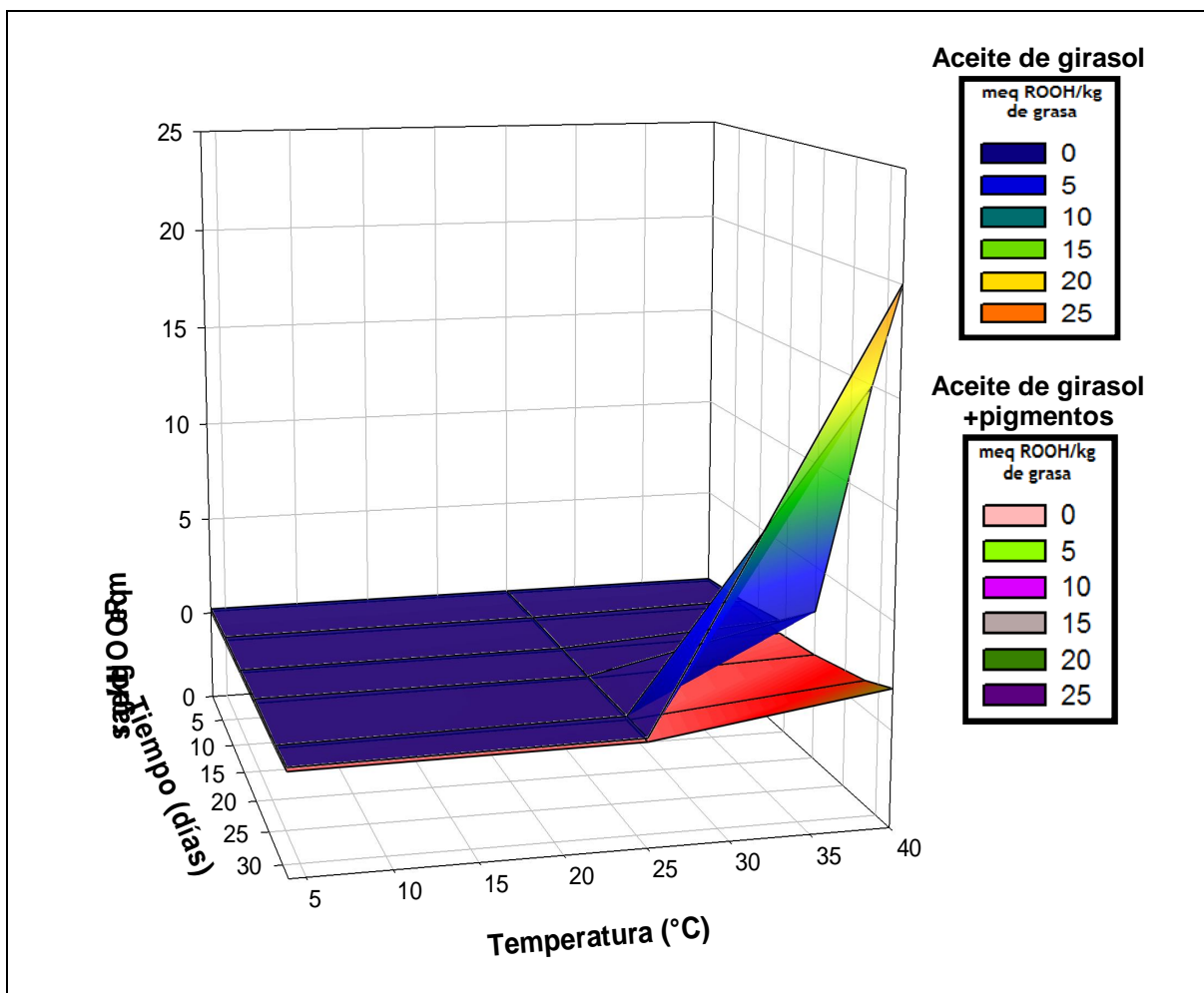
T (°C)	$K=k_0 e^{\frac{-Ea}{RT}}$ (min ⁻¹)		$t = \ln(D_0/D_t)$			
	D _{astx}	FP	FP	FP	D _{astx}	D _{astx}
			Días	Meses	Días	Meses
4	3.86x10 ⁻⁶	3.22 x10 ⁻⁵	24.56	0.818	39.62	1.32
15	4.13 x10 ⁻⁶	3.27 x10 ⁻⁵	24.22	0.807	37.04	1.23
20	4.25 x10 ⁻⁶	3.29 x10 ⁻⁵	24.07	0.802	35.98	1.19
28	4.44 x10 ⁻⁶	3.32 x10 ⁻⁵	23.85	0.793	34.42	1.14
30	4.49 x10 ⁻⁶	3.33 x10 ⁻⁵	23.79	0.793	34.06	1.13
40	4.73 x10 ⁻⁶	3.36 x10 ⁻⁵	23.54	0.784	32.34	1.07
45	4.84 x10 ⁻⁶	3.38 x10 ⁻⁵	23.42	0.780	31.56	1.05
50	4.96 x10 ⁻⁶	3.40 x10 ⁻⁵	23.30	0.776	30.82	1.02

D_{astx}= Degradación de los pigmentos carotenoides (astaxantina), FP= Formación de hidroperóxidos

Con base en los resultados obtenidos al calcular la vida de anaquel (Tabla 19), el parámetro de calidad que determinó la vida de anaquel de los pigmentos extraídos, fue la formación de hidroperóxidos, ya que la vida de anaquel fue más corta (24.56 días) que la degradación de la astaxantina (39.62 días).

Debido a que la oxidación lipídica es una de las causas que mayormente deterioran los alimentos, afectando atributos de calidad como son: el aroma por la formación o modificación de compuestos volátiles; el sabor, por la formación de ácidos hidroxilo; el valor nutritivo, al

disminuir los ácidos grasos esenciales (Eriksson, 1981); se tomó como factor determinante de la vida de anaquel de los pigmentos carotenoides (astaxantina) la formación de hidroperóxidos. No obstante, la vida de anaquel de los pigmentos obtenidos del cefalotórax de camarón resultaron ser muy cortas para su posible comercialización; sin embargo, como se aprecia en la Gráfica 11 al compararse la formación de hidroperóxidos del aceite de girasol con pigmentos carotenoides y el aceite de girasol de referencia (sin pigmentos), el tiempo en el cual se llevó la cuantificación de hidroperóxidos del pigmento sólo permitió observar el periodo de inducción del deterioro oxidativo de los lípidos del pigmento. Por tanto, para obtener resultados más reales de la vida de anaquel será necesario considerar el comportamiento completo de la formación de hidroperóxidos en el deterioro del aceite utilizado para extraer los pigmentos carotenoides, por lo que se necesitará un mayor tiempo para este estudio.









Gráfica 11: Comparación de la formación de hidroperóxidos del aceite de girasol y del aceite de girasol con pigmentos carotenoides (astaxantina) obtenidos del cefalotórax de camarón

4.7. Aplicación de los pigmentos carotenoides (astaxantina) en un mousse de salmón

Al elaborarse el mousse de salmón se observó una pérdida del color característico del salmón, debido principalmente al proceso de enlatado del salmón y al proceso de elaboración propio del mousse, por lo que para recuperar esta pérdida de coloración se utilizó como colorante natural el pigmento (astaxantina) extraído del cefalotórax de camarón. Para ello se utilizaron diferentes cantidades del aceite pigmentado: 1.75, 3.44 y 4.27%. Para evaluar la diferencia de color se utilizó un colorímetro marca Minolta, apreciándose los resultados en la Tabla 20.

Tabla 20: Valores CIELAB para las diferentes formulaciones de mousse de salmón

Valores CIELAB	Fórmula de referencia	Formulación 1	Formulación 3	Formulación 4	Salmón enlatado	Salmón fresco
						
L*	86.00±0.22 ^d	84.86±0.68 ^{cd}	83.27±1.00 ^{cd}	82.37±0.81 ^c	71.86±4.36 ^b	45.57±1.40 ^a
a*	2.10±0.43 ^a	4.75±0.05 ^b	6.43±0.23 ^c	7.02±0.58 ^c	6.61±0.18 ^c	11.71±2.01 ^d
b*	13.40±0.94 ^b	16.35±0.33 ^c	18.72±0.37 ^d	19.70±1.04 ^d	18.33±0.66 ^d	10.68±3.09 ^a
C*	13.57±0.98 ^a	17.02±0.30 ^b	19.80±0.41 ^{cd}	20.91±1.18 ^d	19.49±0.66 ^c	15.08±0.64 ^a
h°	81.11±1.43 ^d	73.76±0.94 ^c	71.04±0.43 ^{bc}	70.39±0.55 ^{bc}	70.14±0.70 ^b	45.33±4.55 ^a

Los valores reportados son el promedio de tres mediciones, donde L* = luminosidad, a* = Tonos rojos (+)/verdes (-), b* = Tonos amarillos (+)/azules (-), C* = Cromo (Saturación) y h° = Ángulo de tono, donde el rojo tienen un tono de ángulo de 0°, naranja 45°, amarillo 90°, verde 180°, azul 270° y púrpura 315°.

^{a-b}Diferentes superíndices en una fila indican diferencia significativa (p<0.05) entre los diferentes parámetros CIELAB por día de almacenamiento.

^{e-g}Diferentes superíndices en una columna indican diferencia significativa (p<0.05) entre los diferentes parámetros CIELAB por temperatura de almacenamiento

Mediante un análisis de varianza (Anexo 9), de los resultados obtenidos de las coordenadas CIELAB (Tabla 20), se encontró que al enlatar el salmón existe una pérdida de coloración significativa, de acuerdo con los tonos rojos (de a* = 11.71 en el salmón crudo a 6.61 en el salmón enlatado). Al elaborar el mousse de salmón (a* = 2.10) también hay pérdida, por lo que al adicionar e ir aumentando la concentración del pigmento a la fórmula de referencia se incrementaron los valores de a* (tonos rojos), recuperándose la pérdida del color. Las formulaciones 3 y 4 lograron recuperar la pérdida de coloración debida al procesado

industrial del mousse de salmón sin llegarse a recuperar la pérdida de coloración debida al tratamiento térmico que sufre durante el enlatado el salmón fresco. Para el caso de h° , el cual indica el ángulo de tono o tonalidad, se encontró que la fórmula de referencia presentó una ángulo correspondiente a las tonalidades amarillo-anaranjado⁴ de acuerdo con el círculo cromático de setenta y dos tonos (ver Anexo 10), distribuidos de acuerdo con el sistema CIELAB (Sanz y Gallego, 2001), avanzando hacia el amarillo naranja⁵ al ir aumentando la concentración del pigmento en el mousse de salmón. En cuanto a la luminosidad (L^*) del mousse de salmón se observó que ésta disminuyó al aumentarse la concentración del pigmento, debido a que las moléculas de los pigmentos carotenoides absorben parte de la luz y, por lo tanto, una menor cantidad de luz fue reflejada por las muestras. C^* aumentó debido a que la intensidad de la coloración del mousse de salmón fue aumentando, siendo mayor en la formulación 4. El mousse de salmón elaborado, en el que se aplicó el pigmento extraído es un postre aireado que podría ser considerado como un alimento funcional debido a que el salmón contiene ácidos grasos poliinsaturados (*PUFA*, por sus siglas en inglés), especialmente ácidos grasos altamente insaturados (*HUFA*, por sus siglas en inglés) de la familia ω -3 y ω -6 (Yagiz *et al.*, 2010). Además, podría ser una alternativa para producir alimentos que promuevan la saciedad y reduzcan la densidad calórica debido a la cantidad de aire atrapada en el gel (Zúñiga y Aguilera, 2008). La coloración rosada característica del salmón es un indicador de calidad para los consumidores, por lo que al adicionar los pigmentos carotenoides extraídos del cefalotórax de camarón se mejoraría la calidad visual del producto. Por otro lado, le confiere un mayor valor agregado debido a que la astaxantina le proporcionaría sus propiedades funcionales, mencionadas en el marco teórico y, al mismo tiempo, podría proporcionar un efecto antioxidante pudiendo aumentar la calidad del producto, tanto nutrimental como funcionalmente durante más tiempo, evitando el deterioro oxidativo de los ácidos grasos presentes en el salmón. No obstante, se notó que tanto el olor como el sabor del camarón pueden ser perceptibles en mayor medida si se adiciona una concentración mayor o igual 4.27%, por lo que tal vez para algunos consumidores, esto pudiera no ser aceptable, aunque para otros consumidores podría parecerles altamente atractivo.

⁴ Designación de la luz, emitida, transmitida o reflejada, que posee una longitud de onda entre 577 y 579nm (Sanz y Gallego, 2001)

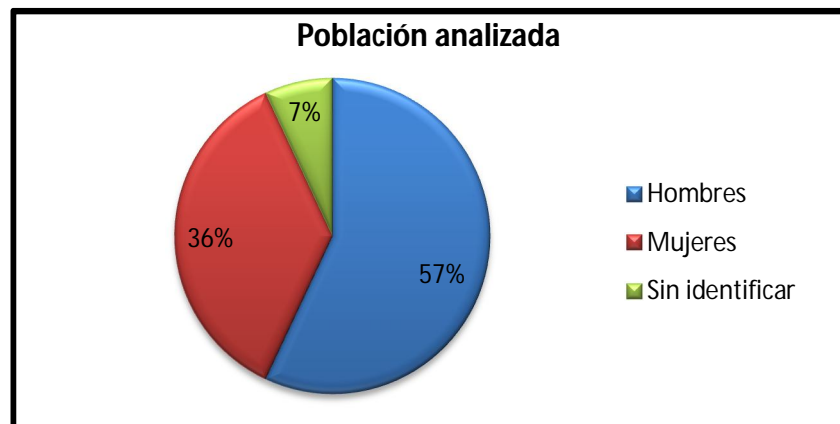
⁵ Designación de la luz, emitida, transmitida o reflejada, que posee una longitud de onda entre 579 a 581 nm (Sanz y Gallego, 2001)

4.8. Evaluación sensorial del mousse de salmón

Para determinar si el producto era aceptado o rechazado por los consumidores, a pesar de que el sabor y olor del camarón fueron perceptibles ligeramente en el mousse de salmón, se realizó la evaluación sensorial del producto a 86 consumidores potenciales en un restaurante de mariscos cooperante (La Ola Marina) mediante el cuestionario mostrado en el Anexo 11.

4.8.1. Características de la población estudiada

En la Gráfica 12 se muestra las características, en cuanto a género, de la población estudiada. De esta población analizada la mayoría de los consumidores que evaluaron el producto fueron hombres como se aprecia en la Gráfica 12.



Gráfica 12. Clasificación de la población analizada en cuanto a género

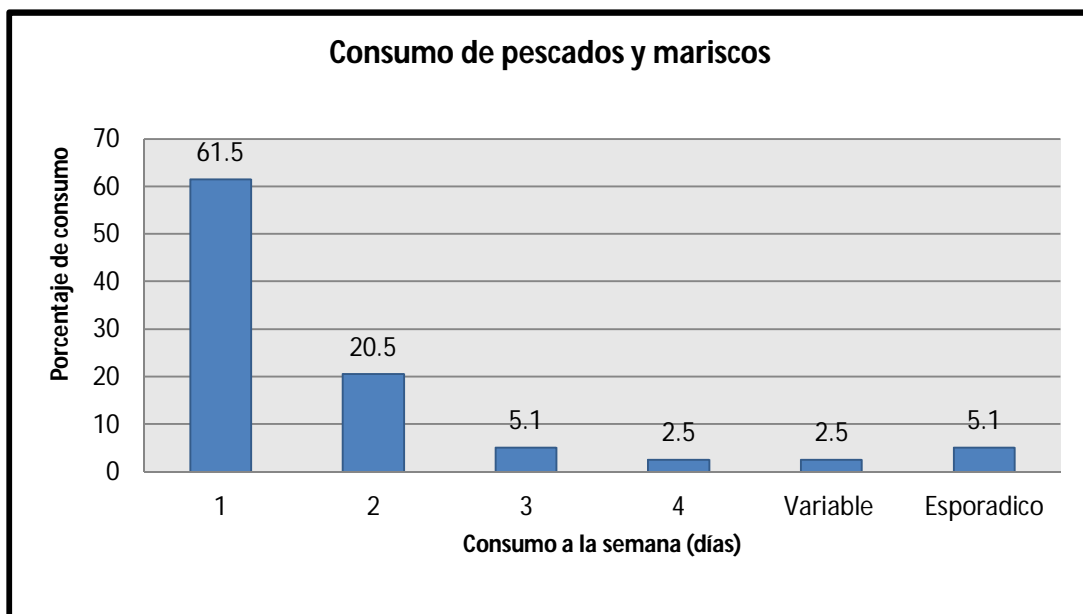
En cuanto a las edades de los consumidores el rango en que se encontraron fue muy variado ya que fueron desde los 20 hasta los 80 años (Tabla 21).

Tabla 21. Relación de las edades de la población analizada

Edad	Porcentaje de edad
20-29	24
30-39	21
40-49	30
50-59	18
>60	7

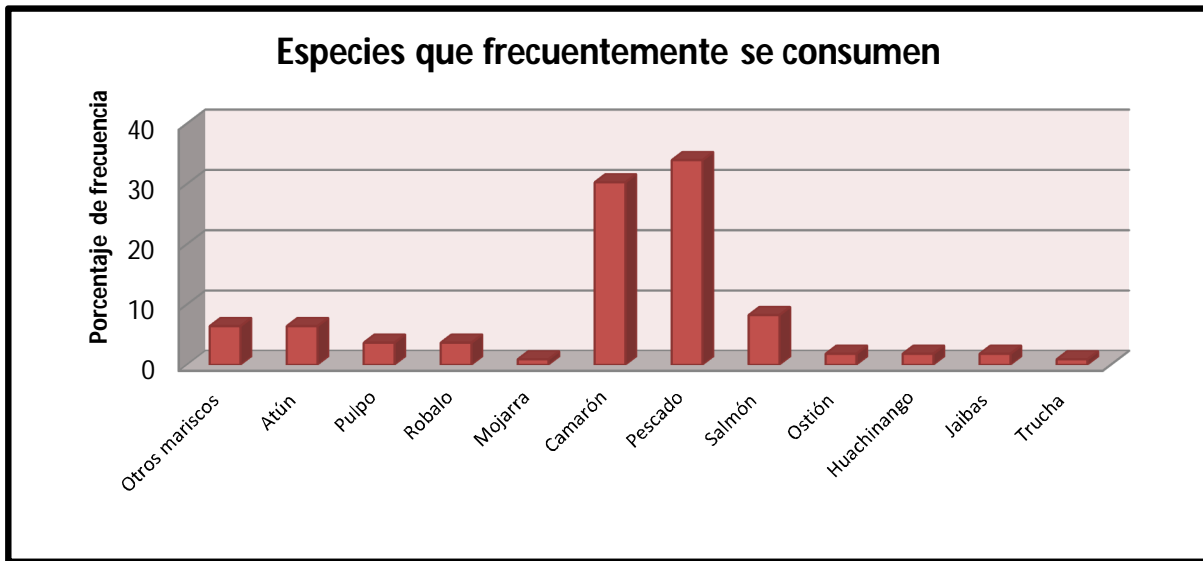
Mediante el cuestionario utilizado en la evaluación sensorial también fue posible determinar que de la población analizada, los pescados y mariscos son productos que se consumen con muy poca frecuencia, ya que el 61.5% de la población estudiada los consumen 1 vez a la

semana como se puede observar en la Gráfica 13. De acuerdo con la Organización para la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés), el consumo *per cápita* de pescados y mariscos en México es de 12.81 kg al año, mientras que el promedio mundial es de 17, lo cual confirma que su consumo es bajo comparado con otros países (FAO, 2012b,c). Esto podría estar relacionado con el hecho de que la mayoría de los pescados y mariscos que se consumen con frecuencia son caros. Éste es el caso del camarón que, dependiendo del tamaño, su precio promedio varía desde los \$122 hasta los \$297 pesos por kilogramo, siendo un poco más económicos los filetes de pescado que, dependiendo de la especie, tienen precios promedio que varían desde los \$65.39 hasta los \$278.45 pesos por kilogramo, siendo el robalo, el huachinango y el salmón las especies más caras (Abaroa, 2012).



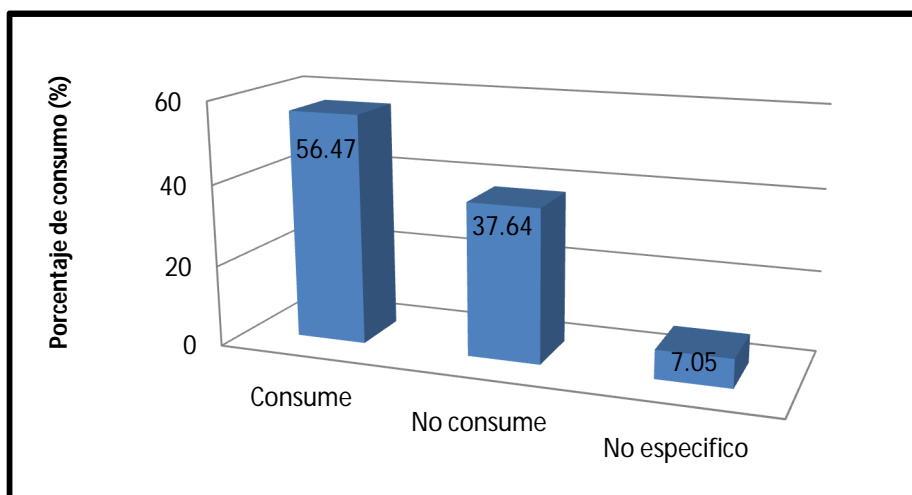
Gráfica 13: Consumo de pescados y mariscos a la semana

A continuación, en la Gráfica 14 se aprecian las especies que frecuentemente son consumidas, encontrándose que el filete de pescado con mayor frecuencia (33.94% de la población analizada), seguido del camarón (30.27%) siendo el marisco que se consume con mayor frecuencia por arriba del pulpo y el ostión.



Gráfica 14: Especies que frecuentemente son consumidas (pescado se refiere al filete de pescado)

En cuanto al salmón se puede observar que, del sector analizado, el salmón presentó un alto consumo siendo éste del 56.47% entre la población, como puede apreciarse en la Gráfica 15. Sin embargo, la frecuencia con la que se consume es baja (8.25%), como se muestra en la Gráfica 14. Esto podría deberse al costo del salmón que se encuentra entre los \$183.36 y 260.00 pesos el kilogramo o, en el caso del salmón enlatado, su precio es de aproximadamente \$70 pesos la lata con un contenido de 400 g (\$175/kg total, no masa drenada).



Gráfica 15: Consumo de salmón de la población analizada

4.8.2. Prueba de ordenamiento: para el color

Para determinar cuál de las muestras de mousse de salmón era más parecida a la coloración del salmón, según el criterio de los consumidores, se realizó una prueba de ordenamiento.

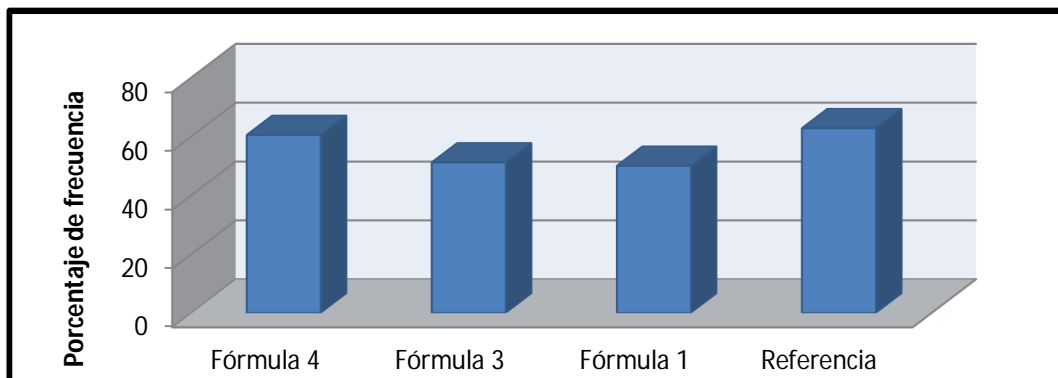
Los resultados obtenidos del análisis de ordenamiento de rangos con un nivel de significancia del 5% (Tabla 22) muestran que: entre la fórmula de referencia y la fórmula 2 (1.75%), 3 (3.44%) y 4 (4.27%) presentan diferencias significativas, así mismo al comparar la fórmula 2 con la las fórmulas 3 y 4, se encontró diferencia significativa ($p < 0.05$), es decir, los comensales percibieron diferencia en cuanto al color de las diferentes muestras. Sin embargo al comparar la fórmula 4 con la fórmula 3 los consumidores no lograron percibir diferencia significativa

Tabla 22: Diferencias absolutas entre suma de rangos de la prueba de ordenamiento para el atributo color

Muestras	DR	DAC	Diferencia significativa
Referencia-Fórmula 2	47 >	44	Si
Referencia -Fórmula 3	107 >	44	Si
Referencia -Fórmula 4	148 >	44	Si
Fórmula 2-Fórmula 3	60 >	44	Si
Fórmula 2-Fórmula 4	101 >	44	Si
Fórmula 4-Fórmula 3	-41 <	44	No

Donde: DR=Diferencia de rangos, DAC= Diferencia absoluta crítica ($p < 0.05$). Fórmula 1=1.75%, 3=3.44% y 4=4.27% de pigmento utilizado en el mousse de salmón

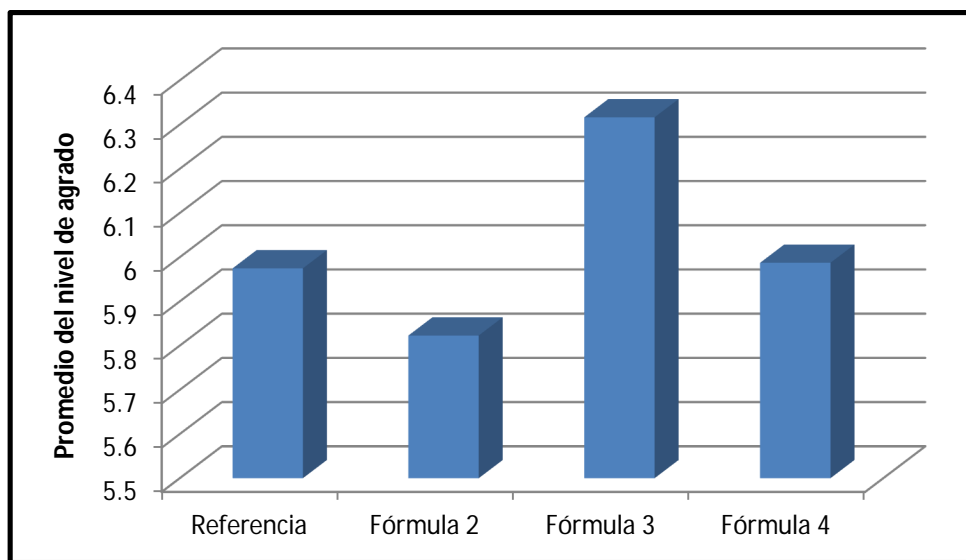
Por lo que, de acuerdo a los resultados obtenidos de los consumidores (ver Gráfica 16), la muestra que más se parece al color del salmón son las formulaciones 3 y 4, seguidas de la formula 1 y referencia siendo esta ultima la que menos se parece al color del salmón.



Gráfica 16: Comparación del mousse con el color del salmón, representada de mayor a menor similitud (Izquierda a derecha) donde 1= 1.75 %, 3= 3.44% y 4= 4.27% de pigmento utilizado en el mousse de salmón

4.8.3. Prueba de nivel de agrado

Para determinar si el sabor y olor que se pudiera percibir en el pigmento extraído de la harina del cefalotórax de camarón afectó el nivel de agrado del mousse de salmón entre los consumidores, se realizó la prueba de nivel de agrado. Los datos obtenidos de esta prueba fueron analizados mediante un análisis de varianza (Andeva ó ANOVA por sus siglas en inglés), utilizándose con un nivel de significancia de 0.05 (Anexo 12). Los promedios obtenidos de la prueba de nivel de agrado muestran que en general las muestras analizadas gustan poco siendo la fórmula 3 la que presenta un mayor agrado por parte de los consumidores.



Gráfica17: Promedio del nivel de agrado de las diferentes formulaciones del salmón. Donde 2= 1.75 %, 3= 3.44% y 4= 4.27% de pigmento utilizado en el mousse

Los resultados obtenidos del andeva arrojaron que los consumidores prefirieron de igual manera las diferentes muestras de mousse de salmón, es decir, no hubo una diferencia significativa entre las muestras evaluadas, por lo que el olor y el sabor a camarón en el pigmento no afectó de manera significativa el agrado por parte del consumidor para el caso del mousse de salmón, ya que éste podría ser enmascarado por el salmón. Se encontró que, en general, las muestras agradan moderadamente.

4.8.4. Prueba de ordenamiento: para la preferencia del mousse de salmón

Para determinar cuál de las muestras de mousse de salmón se prefirieron en mayor medida y cuál en menor medida, se realizó una prueba de ordenamiento por parte de los

consumidores. Los resultados obtenidos de esta prueba se muestran a continuación en la Tabla 23.

Tabla 23: Diferencias absolutas entre suma de rangos de la prueba de ordenamiento para la preferencia del mousse de salmón

Muestras	DR		DAC	Diferencia significativa
Referencia-Fórmula 2	2	<	44	No
Referencia -Fórmula 3	26	<	44	No
Referencia -Fórmula 4	17	<	44	No
Fórmula 2-Fórmula 3	24	<	44	No
Fórmula 2-Fórmula 4	15	<	44	No
Fórmula 4-Fórmula 3	9	<	44	No

Donde: DR=Diferencia de rangos, DAC= Diferencia absoluta crítica ($p < 0.05$). Fórmula 1=1.75%, 3=3.44% y 4=4.27% de pigmento utilizado en el mousse de salmón

Al realizar el análisis de ordenamiento de rangos con un nivel de significancia del 1% (Tabla 23) se encontró que no hubo diferencia significativa entre las muestras analizadas, es decir, las diferentes muestras de mousse de salmón fueron preferidas de igual manera. Por tanto, el pigmento extraído del cefalotórax de camarón puede ser utilizado como colorante para este producto ya que el sabor del camarón presente en el pigmento no afectó significativamente la aceptabilidad del mousse de salmón.

4.9. Determinación de la vida de anaquel del mousse de salmón con pigmentos carotenoides (astaxantina)

Debido a la composición química del producto analizado (alto contenido de lípidos y humedad), se seleccionaron como parámetros de calidad a analizar los siguientes: Humedad, acidez titulable, formación de hidroperóxidos, evaluación del color, parámetros sensoriales y análisis microbiológico los cuales serán descritos a continuación.

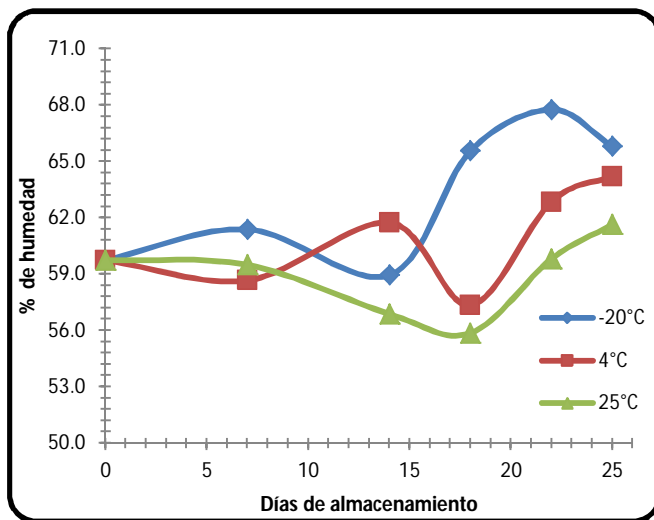
4.9.1. Evaluación de los parámetros físicos y químicos del mousse de salmón con pigmentos carotenoides (Humedad, acidez e hidroperóxidos)

Los resultados obtenidos al evaluar el mousse de salmón con pigmentos carotenoides (astaxantina) se muestran en la Tabla 24.

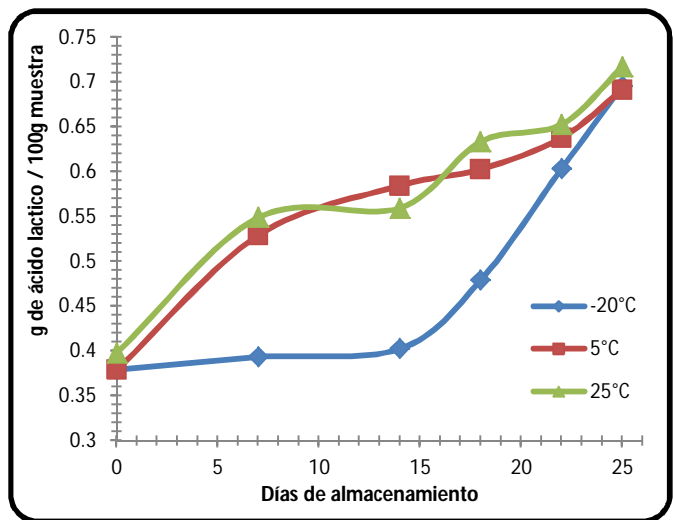
Tabla 24: Resultados de los parámetros físicos y químicos utilizados para determinar la vida de anaquel del mousse de salmón con 4.27% pigmentos carotenoides (astaxantina)

Día	Humedad			Acidez			Hidroperóxidos		
	-20°C	5°C	25°C	-20°C	5°C	25°C	-20°C	5°C	25°C
0	59.74 ^{±0.22}	59.74 ^{±0.22}	59.74 ^{±0.22}	0.378 ^{±0.01}	0.378 ^{±0.01}	0.397 ^{±0.02}	0.026 ^{±0.01}	0.026 ^{±0.01}	0.026 ^{±0.01}
7	61.38 ^{±2.42}	58.66 ^{±0.60}	59.48 ^{±0.80}	0.393 ^{±0.05}	0.528 ^{±0.02}	0.548 ^{±0.02}	0.035 ^{±0.00}	0.087 ^{±0.01}	0.078 ^{±0.01}
14	58.93 ^{±4.13}	61.74 ^{±2.04}	56.87 ^{±1.11}	0.402 ^{±0.02}	0.584 ^{±0.10}	0.559 ^{±0.04}	0.072 ^{±0.01}	0.146 ^{±0.02}	0.138 ^{±0.01}
18	65.56 ^{±4.33}	57.33 ^{±0.59}	55.85 ^{±3.09}	0.478 ^{±0.04}	0.602 ^{±0.06}	0.633 ^{±0.02}	0.018 ^{±0.01}	0.040 ^{±0.01}	0.071 ^{±0.01}
22	67.76 ^{±1.32}	62.85 ^{±2.67}	59.81 ^{±3.91}	0.603 ^{±0.01}	0.637 ^{±0.06}	0.652 ^{±0.04}	0 ^{±0.0}	0.053 ^{±0.01}	0.016 ^{±0.01}
25	65.79 ^{±2.05}	64.22 ^{±3.67}	61.63 ^{±3.64}	0.695 ^{±0.04}	0.691 ^{±0.01}	0.716 ^{±0.01}	0.045 ^{±0.01}	0.197 ^{±0.02}	0.227 ^{±0.03}

El contenido de humedad es uno de los más importantes atributos que afectan la calidad y seguridad de los alimentos almacenados ya que al aumentarse la velocidad de las reacciones de deterioro, favorecer el desarrollo de microorganismos. Como se muestra en la Gráfica 18, el contenido de humedad del mousse de salmón no presentó una tendencia en específico, ya que aumentó o disminuyó el contenido de humedad con el paso del tiempo.



Gráfica 18: Variación de la humedad durante el almacenamiento del mousse de salmón

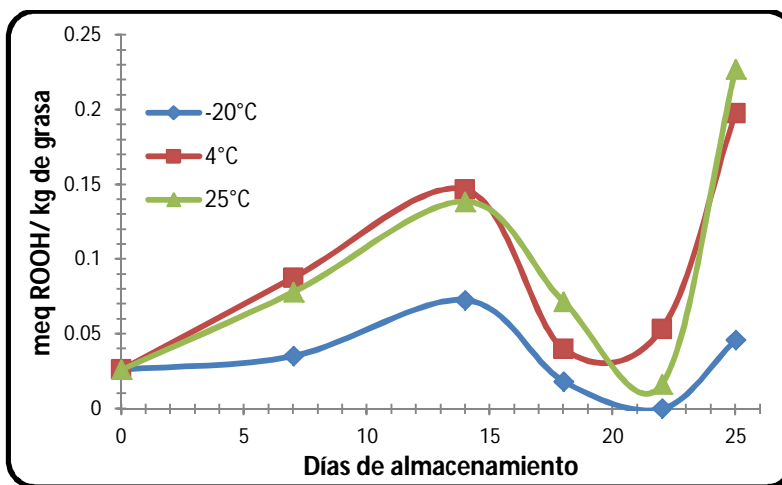


Gráfica 19: Variación de la acidez durante el almacenamiento del mousse de salmón

Sin embargo, aumentó significativamente ($p < 0.05$) al final de la evaluación (Ver análisis estadístico en el Anexo 14), siendo mayor el contenido de humedad del mousse de salmón almacenado a -20°C ($p < 0.05$) que las muestras almacenadas a 4 y 25°C , sin encontrarse diferencia significativa entre las temperaturas de 4 y 25°C . Esto podría explicarse debido a que el material que fue utilizado (PET) presenta una menor permeabilidad a temperaturas de entre 20 y 60°C (Siracusa, 2012).

En cuanto al contenido de acidez se encontró (Gráfica 19) que al incrementarse la temperatura de almacenamiento aumentó el contenido de acidez, encontrándose que a temperatura de congelación (-20°C), la velocidad fue significativamente menor ($p < 0.05$) que las muestras almacenadas a 4 y 25°C hasta el día 18, ya que después se observó un aumento drástico. El aumento de la acidez entre el mousse de salmón almacenado a 4 y a 25°C no presentó diferencia significativa a un $p < 0.05$. Cabe mencionar, que el aumento de la acidez en el mousse se debe principalmente al desarrollo microbiológico de bacterias lacto-degradadoras, las cuales biodegradan ácidos orgánicos (ácido láctico).

En cuanto al Índice de peróxidos (Gráfica 20), se encontró que la formación de hidroperóxidos aumento significativamente ($p < 0.05$) durante el almacenamiento, observándose que a partir del día 18 se vio disminuida la concentración pero, al final de la evaluación, aumentó nuevamente por lo que se cree que aún no se vieron degradados estos hidroperóxidos en sus productos secundarios (aldehídos, cetonas).



Gráfica 20: Variación del índice de peróxidos durante el almacenamiento del mousse de salmón

En las muestras almacenadas a temperaturas de congelación la formación de hidroperóxidos fue menor ($p < 0.05$) que las muestras almacenadas en refrigeración (4°C) y a temperatura ambiente (25°C), sin encontrarse diferencias significativas en cuanto la formación de hidroperóxidos entre las muestras almacenadas a 4 y a 25°C. De acuerdo con la norma NMX-F-021-S-1979 para mayonesa (DOF, 1979), el límite permitido del índice de peróxidos

es de 20 meq ROOH/kg de grasa máximo, por lo que se tomó como referencia para el mousse de salmón debido a que la mayonesa es un producto alimenticio obtenido por la emulsión cremosa que se obtiene con aceites vegetales comestibles y que, además, presenta un alto contenido de grasas. Por tanto, como una primera aproximación podrían ser comparados los resultados obtenidos de la evaluación del mousse de salmón con los pigmentos carotenoides (astaxantinas) con este valor del parámetro. Los datos del índice de peróxidos más bajos podrían deberse a las propiedades antioxidantes que le proporciona la astaxantina a los lípidos al suprimir especies con oxígeno activo y radicales libres (Pu *et al.*, 2010), aunadas a la disminución de la velocidad de las reacciones bajo condiciones de refrigeración y congelación.

4.9.2. Evaluación del color durante el almacenamiento del mousse de salmón

La apariencia, particularmente el color, de los productos alimenticios juega un papel importante en su elección, influyendo en la preferencia y aceptación de los productos alimenticios por parte de los consumidores. Por ello, es importante evaluar el cambio de coloración durante el almacenamiento de un producto y, en este caso, el mousse de salmón.

En la Tabla 25 se aprecian los valores CIELAB del mousse de salmón con pigmentos carotenoides (MCP), mientras que en la Tabla 26 se presentan los resultados obtenidos de la evaluación del color del mousse de salmón utilizado como referencia (MSP). Como se puede apreciar, tanto para el MCP como para el MSP, no se presentó una tendencia en específico sino que el comportamiento varió con respecto al tiempo.

Como se puede apreciar en la Gráfica 21 el cambio de coloración debido al almacenamiento dió como resultado un aumento de los valores de L* para las temperaturas de -20 y de 4°C hasta el día 14. Esto indicaría que no hubo una degradación de los pigmentos (astaxantina) a esas temperaturas. Sin embargo, para la muestra almacenada a 25°C, se observó para L* una tendencia hacia valores más bajos, encontrándose diferencia ($p < 0.05$) durante el almacenamiento del MCP entre los días 0 con respecto a los días 7, 14, 22 y 25, así como para el día 14 con respecto a los días 7, 18 y 25. Por otro lado, para el MSP (Gráfica 22) sólo se presentó una diferencia entre el día 22 y 25 ($p < 0.05$) para las tres temperaturas de almacenamiento.

Tabla 25: Cambios en los valores L*,a*,b*,C* y h° del mousse de salmón con pigmentos carotenoides (astaxantina) durante su almacenamiento bajo diferentes temperaturas

CL	T	0	7	14	18	22	25
L*	-20°C	81.94±0.32 ^{ae}	83.12±0.08 ^{bce}	84.93±0.12 ^{de}	83.06±0.12 ^{abe}	84.20±0.04 ^{cde}	83.32±0.01 ^{bce}
	4°C	81.94±0.32 ^{af}	82.81±0.19 ^{bcf}	83.87±0.12 ^{df}	82.87±0.35 ^{abf}	83.13±0.12 ^{cdf}	84.01±0.29 ^{bcf}
	25°C	81.94±0.32 ^{af}	82.14±0.30 ^{bcf}	82.63±0.70 ^{df}	80.94±0.11 ^{abf}	82.39±0.23 ^{cdf}	81.67±0.46 ^{bcf}
a*	-20°C	7.02±0.58 ^{af}	7.79±0.08 ^{af}	7.45±0.31 ^{af}	7.62±0.78 ^{af}	7.75±0.48 ^{af}	7.67±0.69 ^{af}
	4°C	7.02±0.58 ^{ae}	6.58±0.07 ^{ae}	6.93±0.26 ^{ae}	6.89±0.05 ^{ae}	7.45±0.06 ^{ae}	7.35±0.70 ^{ae}
	25°C	7.02±0.58 ^{ag}	6.32±0.29 ^{ag}	5.79±0.08 ^{ag}	6.30±0.43 ^{ag}	6.00±0.54 ^{ag}	7.10±0.46 ^{ag}
b*	-20°C	19.70±1.04 ^{af}	21.13±0.28 ^{af}	20.23±0.35 ^{af}	19.74±0.04 ^{af}	20.57±0.02 ^{af}	20.93±1.15 ^{af}
	4°C	19.70±1.04 ^{ae}	18.80±0.08 ^{ae}	19.06±0.15 ^{ae}	19.29±0.49 ^{ae}	18.88±0.30 ^{ae}	19.01±1.06 ^{ae}
	25°C	19.70±1.04 ^{ae}	18.43±0.09 ^{ae}	17.95±0.61 ^{ae}	18.88±0.04 ^{ae}	18.17±0.80 ^{ae}	18.46±0.03 ^{ae}
c*	-20°C	20.91±1.18 ^{af}	22.55±0.22 ^{af}	21.57±0.41 ^{af}	20.76±1.08 ^{af}	21.67±0.50 ^{af}	22.30±1.21 ^{af}
	4°C	20.91±1.18 ^{ae}	19.91±0.11 ^{ae}	20.64±0.73 ^{ae}	20.54±0.45 ^{ae}	20.09±0.44 ^{ae}	20.38±1.22 ^{ae}
	25°C	20.91±1.18 ^{ae}	19.31±0.17 ^{ae}	18.91±0.66 ^{ae}	20.11±0.49 ^{ae}	19.13±0.93 ^{ae}	20.21±0.90 ^{ae}
h°	-20°C	70.39±0.55 ^{bce}	69.90±0.22 ^{ce}	69.45±0.24 ^{ce}	68.04±0.59 ^{bce}	68.15±0.51 ^{abe}	69.04±0.37 ^{ae}
	4°C	70.39±0.55 ^{bce}	71.81±0.17 ^{ce}	71.73±0.21 ^{ce}	71.75±0.83 ^{bce}	71.40±0.51 ^{abe}	69.68±0.17 ^{ae}
	25°C	70.39±0.55 ^{bcf}	70.70±0.11 ^{cf}	70.36±0.09 ^{cf}	69.51±0.19 ^{bcf}	68.88±0.07 ^{abf}	68.37±0.39 ^{af}

Donde CL= Valores CIELAB, T=Temperatura de almacenamiento, L*= luminosidad, a*=Tonos rojos (+)/verdes (-), b*=Tonos amarillos (+)/azules (-), C*= Croma (Saturación) y h°= Ángulo de tono donde el rojo tienen un tono de ángulo de 0°, naranja 45°, amarillo 90°, verde 180°, azul 270° y púrpura 315°

^{ad} Diferentes superíndices en una fila indican diferencia significativa (p<0.05) entre los diferentes parámetros CIELAB por día de almacenamiento

^{eg} Diferentes superíndices en una columna indican diferencia significativa (p<0.05) entre los diferentes parámetros CIELAB por temperatura de almacenamiento

Tabla 26: Cambios en los valores L*,a*,b*,C* y h° del mousse de salmón sin pigmentos carotenoides (astaxantina) durante su almacenamiento bajo diferentes temperaturas

CL	T	0	7	14	18	22	25
L*	-20°C	86.18±0.13 ^{abf}	86.48±0.20 ^{abf}	86.43±1.19 ^{abf}	86.41±0.06 ^{abf}	86.77±0.04 ^{bf}	86.37±0.54 ^{af}
	4°C	86.18±0.13 ^{abe}	85.85±0.11 ^{abe}	86.14±0.34 ^{abe}	85.80±0.02 ^{abe}	86.35±0.12 ^{be}	85.65±0.19 ^{ae}
	25°C	86.18±0.13 ^{abe}	85.65±0.73 ^{abe}	86.12±0.62 ^{abe}	85.69±0.18 ^{abe}	86.31±0.67 ^{be}	84.65±0.08 ^{ae}
a*	-20°C	2.10±0.43 ^{ae}	2.91±0.23 ^{be}	3.05±0.26 ^{bce}	2.92±0.06 ^{bce}	2.94±0.01 ^{bce}	3.11±0.15 ^{ce}
	4°C	2.10±0.43 ^{af}	2.75±0.06 ^{bf}	2.87±0.04 ^{bcf}	2.80±0.11 ^{bcf}	2.86±0.10 ^{bcf}	3.08±0.01 ^{cf}
	25°C	2.10±0.43 ^{af}	2.29±0.01 ^{bf}	2.59±0.17 ^{bcf}	2.48±0.28 ^{bcf}	2.72±0.18 ^{bcf}	2.82±0.15 ^{cf}
b*	-20°C	13.80±0.63 ^{af}	13.89±0.47 ^{af}	14.27±0.18 ^{bf}	14.66±0.03 ^{af}	14.45±0.18 ^{af}	14.82±0.01 ^{af}
	4°C	13.80±0.63 ^{ae}	13.59±0.13 ^{ae}	13.36±0.25 ^{ae}	12.97±0.33 ^{ae}	13.78±0.45 ^{ae}	13.12±0.50 ^{ae}
	25°C	13.80±0.63 ^{ae}	13.15±0.11 ^{ae}	12.60±0.15 ^{ae}	12.75±0.45 ^{ae}	13.52±0.24 ^{ae}	12.66±0.01 ^{ae}
c*	-20°C	13.03±0.33 ^{af}	14.17±0.48 ^{bf}	14.56±0.17 ^{bf}	14.92±0.05 ^{bf}	14.47±0.44 ^{bf}	15.15±0.04 ^{bf}
	4°C	13.03±0.33 ^{ae}	13.87±0.11 ^{be}	13.52±0.05 ^{be}	13.40±0.24 ^{be}	13.91±0.23 ^{be}	13.80±0.05 ^{be}
	25°C	13.03±0.33 ^{ae}	13.32±0.18 ^{be}	13.28±0.27 ^{be}	12.93±0.45 ^{be}	13.25±0.27 ^{be}	12.95±0.01 ^{be}
h°	-20°C	80.31±0.34 ^{df}	78.62±0.03 ^{cf}	78.51±0.09 ^{bf}	78.97±0.02 ^{bcf}	78.24±0.41 ^{bf}	78.14±0.54 ^{af}
	4°C	80.31±0.34 ^{de}	79.13±0.10 ^{ce}	77.73±0.11 ^{be}	77.66±0.16 ^{bce}	78.04±0.24 ^{be}	76.60±0.39 ^{ae}
	25°C	80.31±0.34 ^{df}	79.99±0.06 ^{cf}	78.79±0.03 ^{bf}	79.64±0.20 ^{bcf}	78.57±0.53 ^{bf}	77.75±0.25 ^{af}

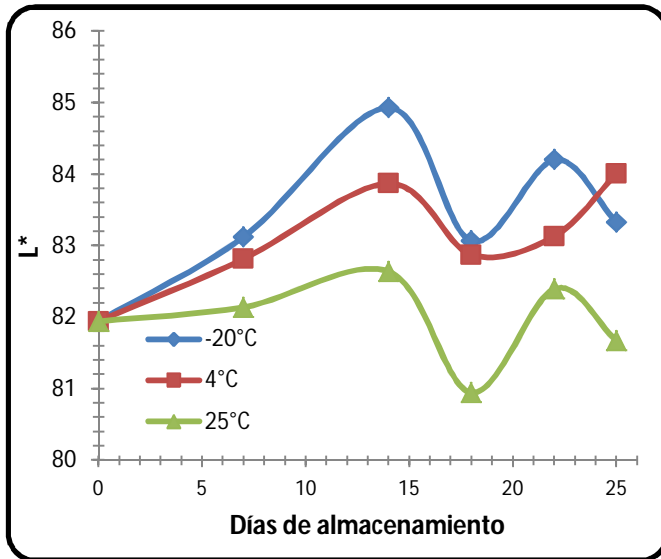
Donde CL= Valores CIELAB, T=Temperatura de almacenamiento, L*= luminosidad, a*=Tonos rojos (+)/verdes (-), b*=Tonos amarillos (+)/azules (-), C*= Croma (Saturación) y h°= Ángulo de tono donde el rojo tienen un tono de ángulo de 0°, naranja 45°, amarillo 90°, verde 180°, azul 270° y púrpura 315°

^{ad} Diferentes superíndices en una fila indican diferencia significativa (p<0.05) entre los días almacenamiento para cada uno de los parámetros CIELAB

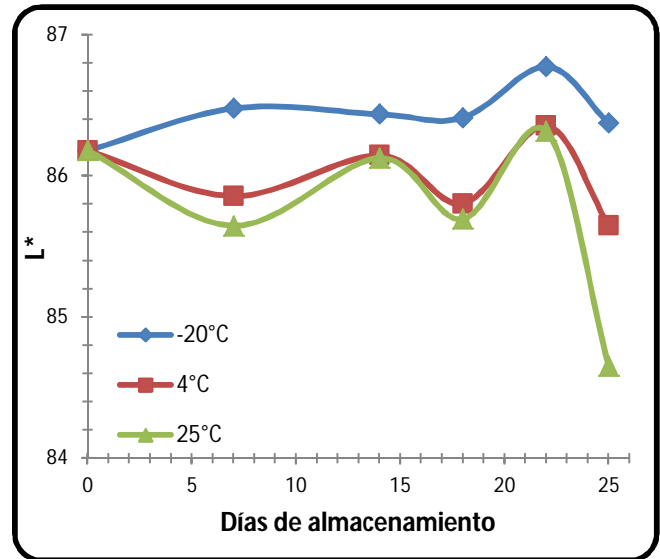
^{eg} Diferentes superíndices en una columna indican diferencia significativa (p<0.05) entre las temperaturas de almacenamiento para cada uno de los parámetros CIELAB.

En cuanto a la temperatura de almacenamiento, para el MCP se encontró diferencia significativa (p<0.05) entre las muestras almacenadas a 25°C con respecto a las de -20 y de 4°C presentando valores más claros que la muestra almacenada a 25°C. Esto podría

deberse a reacciones de Maillard entre las proteínas y los azúcares reductores del salmón, también entre las reacciones entre proteínas y lípidos, así como las reacciones de oxidación de la astaxantina (Kong *et al.*, 2008), que se llevan a cabo más rápidamente al aumentar la temperatura. Para el MSP no se encontró alguna diferencia entre las muestras almacenadas entre 4 y 25°C, pudiendo estar relacionada con la presencia de astaxantinas que, a temperatura de refrigeración, le proporcionan cierta protección a la emulsión.



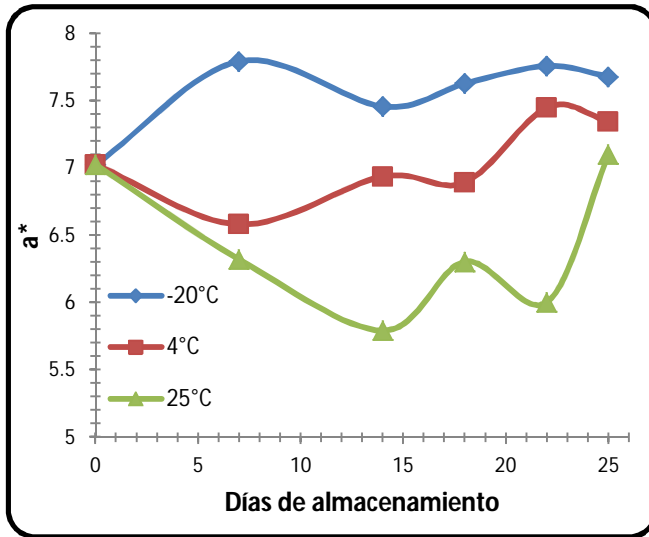
Gráfica 21: Variación del valor L* del mousse con pigmentos durante el almacenamiento



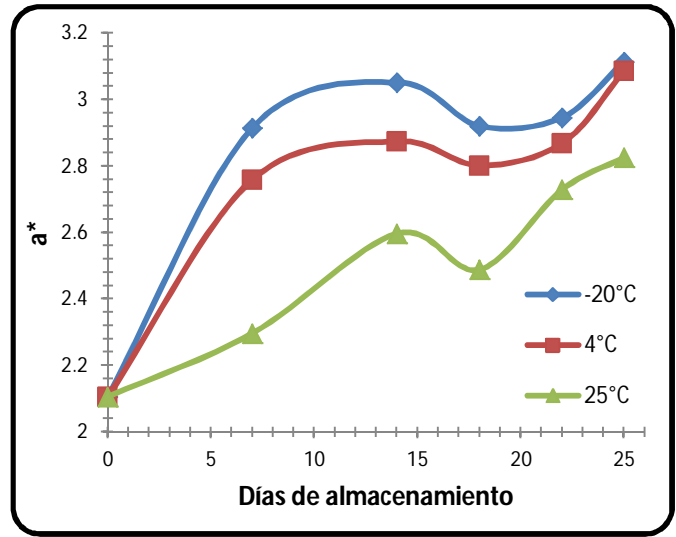
Gráfica 22: Variación del valor L* de mousse sin pigmentos durante el almacenamiento

En las Gráficas 23 y 24 se muestra el efecto de la temperatura en función del tiempo en la variación de los valores de a^* y b^* del MCP y MSP que, a diferencia de lo que se esperaba, sus valores aumentaron, siendo el mayor a la temperatura de -20°C. Sin embargo, se ha encontrado que el aumento de a^* y b^* durante la congelación de los alimentos se debe: 1) al contenido de agua en el alimento que, al disminuir (durante la formación del hielo) hace que los pigmentos se concentren por lo que se observa un aumento en los valores de a^* y b^* (Dunne, 2009) y 2) a la evolución del color, tamaño y forma de los miofibrilos⁶ que se presentan durante la congelación (Einen y Thomassen, 1998; Indergard, 2013), por lo que el aumento de color (a^*) de las muestras almacenadas a 4 y 25°C puede deberse a compuestos que se forman durante el deterioro de los componentes del alimento.

⁶ Estructura característica de la carne de pescados que le permite el movimiento del pez en el agua

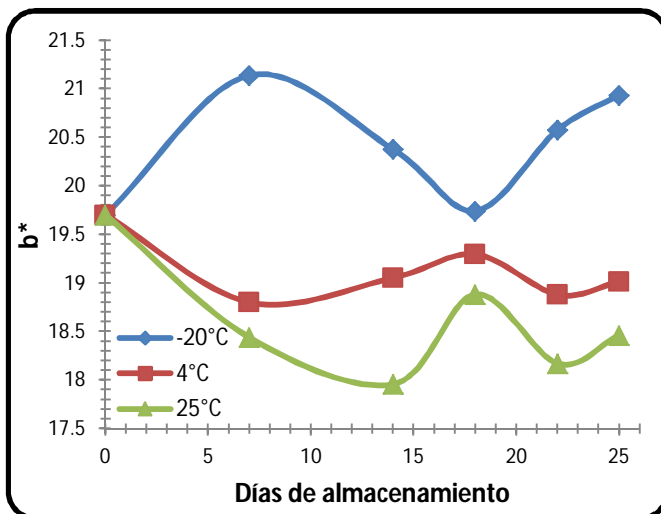


Gráfica 23: Variación del valor a^* del mousse con pigmento durante el almacenamiento

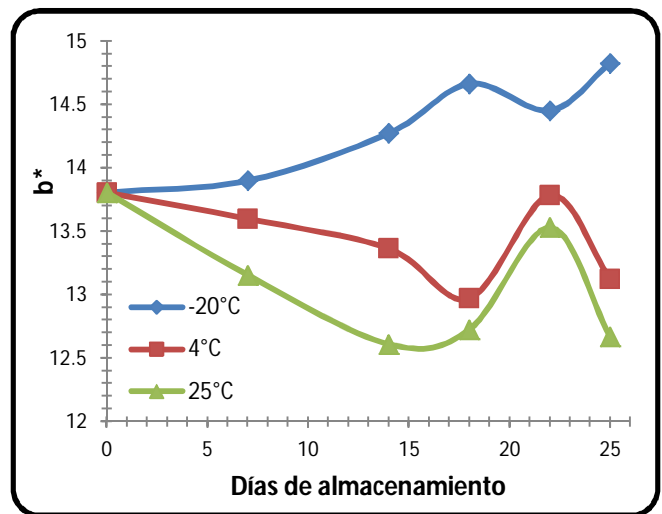


Gráfica 24: Variación del valor a^* del mousse sin pigmento durante el almacenamiento

No obstante, los cambios de color (a^* y b^*) observados durante el tiempo de almacenamiento en el MCP no fueron significativos ($p < 0.05$) (Anexo 15), mientras que en el MSP los cambios en los valores de a^* sí fueron significativos ($p < 0.05$) (Anexo 16), por lo que la adición de los pigmentos carotenoides (astaxantina) le proporciona cierta estabilidad al mousse en cuanto al cambio de coloración. En cuanto a las temperaturas de 4 y 25°C (Gráficas 24 y 25), para los valores de b^* de los MCP y MSP, se observó una disminución en las tonalidades amarillas, encontrándose diferencia ($p < 0.05$) entre las muestras almacenadas a -20°C con las muestras almacenadas a 4 y a 25°C.

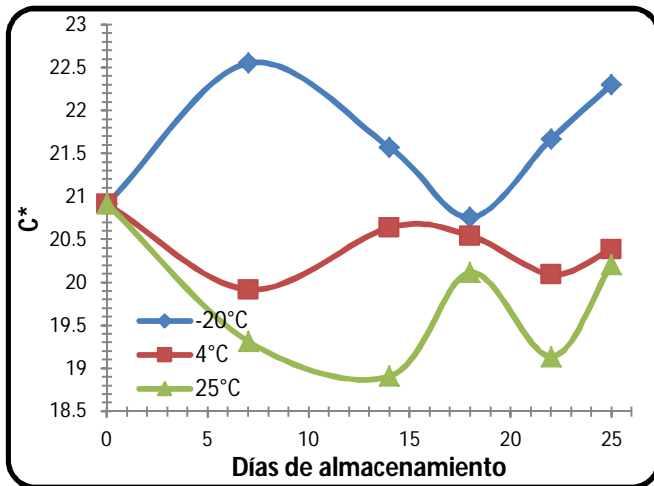


Gráfica 25: Variación del valor b^* del mousse con pigmento durante el almacenamiento

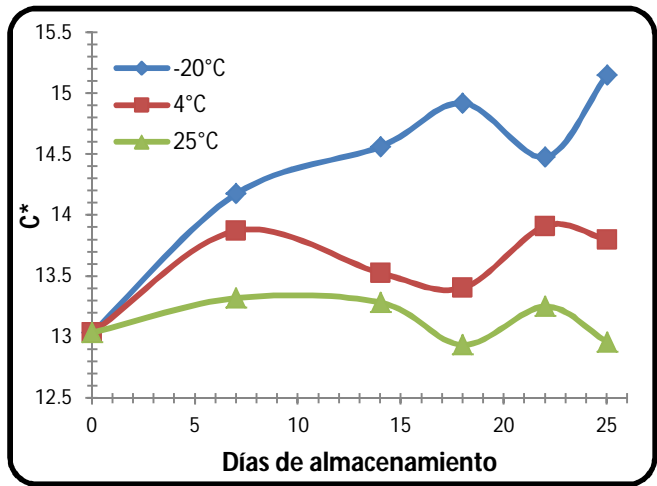


Gráfica 26: Variación del valor b^* del mousse sin pigmento durante el almacenamiento

La variación en los valores de a^* y b^* para el MCP y MSP hace que los valores de C^* y h° varíen de igual manera ya que estos parámetros dependen de los valores de a^* y b^* como se menciona en el marco teórico (Gráficas 26 y 27). En cuanto al efecto de la temperatura en los valores de C^* sólo se encontraron diferencias significativas entre la muestra almacenada a -20°C para el MCP y el MSP, sin encontrarse alguna diferencia durante el tiempo de almacenamiento para ambas muestras.

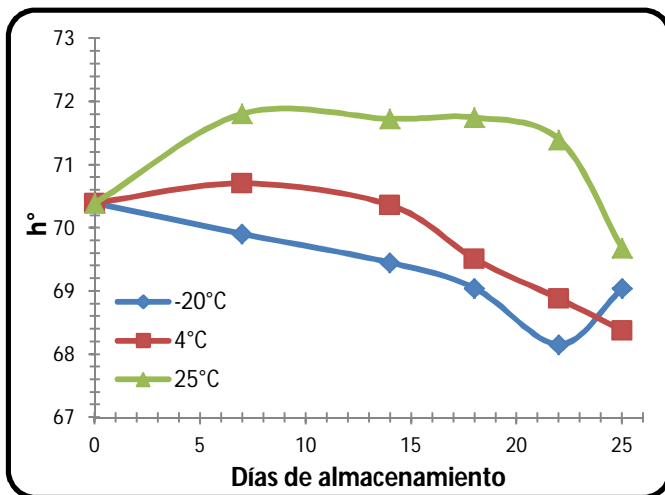


Gráfica 27: Variación del valor C^* del mousse con pigmento durante el almacenamiento

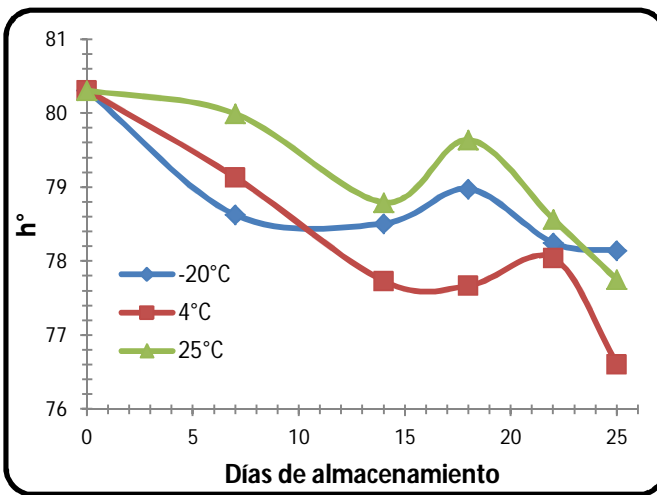


Gráfica 28: Variación del valor C del mousse sin pigmento durante el almacenamiento

Como se puede observar en las Gráficas 28 y 29, el valor de h° disminuyó hacia tonalidades más rojas, siendo estos cambios significativos ($p < 0.05$) en cuanto a la coloración con respecto al tiempo de almacenamiento.



Gráfica 29: Variación del valor h° del mousse con pigmento durante el almacenamiento



Gráfica 30: Variación del valor h° del mousse sin pigmento durante el almacenamiento

Esto quiere decir que el conjunto de los cambios en los valores de a^* y b^* modificaron la percepción del color del MCP y del MSP. En cuanto al efecto de la temperatura se encontró una diferencia significativa ($p < 0.05$) en h° del MCP almacenado a 25 °C con respecto a las temperaturas de -20 y de 4°C notándose una disminución mayor cuando se almacenaron a esas temperaturas. Para la muestra de MSP se presentó una diferencia a las temperaturas de -20 y 25°C.

4.9.3. Parámetros sensoriales

Desde el punto de vista de los consumidores, la vida de anaquel de los alimentos es el tiempo al cual ya no se mantiene un sabor aceptable (Fun y Labuza, 1993), por lo que es importante evaluar si el mousse de salmón presentó cambios de sabor que pudieran ser perceptibles por los consumidores durante su almacenamiento al compararse con una muestra de referencia con la finalidad de encontrar el *cut-off-point* o criterio de falla mencionado en la página 54. En la Tabla 27 se aprecian los datos obtenidos de la prueba triangular del mousse de salmón con pigmentos carotenoides (MP) y sin pigmentos carotenoides (MSP) utilizado como referencia para ver si la adición del pigmento modificó en mayor medida el sabor debido a la presencia de pro-oxidantes formados durante la extracción del pigmento.

Tabla 27: Valores de Ji-cuadrada obtenidos de la prueba triangular del mousse de salmón con pigmentos carotenoides y sin pigmentos carotenoides durante el almacenamiento

Mousse	T (°C)	Tiempo (días)									
		1	2	3	7	8	10	14	18	22	25
MCP	-20	0.33			0.33			0.23	0.93	2.36	1.83
	4	0.33			0.018	2.07	0.018	4.62	0.03	1.29	0.33
	25	0.037	18.01								
MSP	-20	0.33			0.037			0.58	0.037	2.79	
	4	0.37			0.93	0.05	0.91	0.58	1.83	0.75	1.83
	25	1.83	0.91	9.91							

MCP= Mousse con pigmentos carotenoides (astaxantina). MSP= Mousse sin pigmentos carotenoides. Las muestras se tomaron como diferentes al compararse con la ji-cuadrada= 2.706 con un nivel de significancia de 0.05. Los cuadros que no presentan un valor son debido a que ya se había detectado diferencia mientras que, los que tienen color no se realizó la evaluación a esa temperatura

En ella se encontró que, de acuerdo con el cálculo de la Ji-cuadrada, para el MCP almacenado a -20 y a 4°C los jueces (no entrenados) no detectaron alguna diferencia ($p < 0.05$) entre las muestras que tenían tiempo almacenadas y las muestras con menos de 4 días de ser preparadas tomadas como referencia. En cuanto a la muestra almacenada en

congelación (a -20°C), para el MSP se detectó el *cut-off-point* en el día 22, mientras que para la MCP almacenada a -20°C no se detectó el *cut-off-point* durante el tiempo que duró la prueba (30 días). A 25°C, para el MCP y el MSP se encontró el *cut-off-point* en el segundo y tercer día, respectivamente. La presencia del pigmento en el mousse de salmón sólo afectó el sabor del mousse cuando se tuvo una temperatura de almacenamiento de 25°C, mientras que para las demás temperaturas la presencia del pigmento no afectó su sabor.

4.9.4. Parámetros microbiológicos

Debido a las características del procesamiento del mousse de salmón en el cual no hubo un tratamiento térmico posterior, la elaboración y envasado resultaron ser puntos críticos de control, por lo cual debe tenerse cuidado de una posible contaminación de microorganismos patógenos y de descomposición.

En la Tabla 28 se aprecian los resultados de la evaluación microbiológica. Se observa que los microorganismos coliformes totales no fueron detectados en el mousse de salmón tanto con pigmentos carotenoides (astaxantina) (MCP) como sin ellos (MSP), lo cual fue indicativo de la buena higiene durante la elaboración del producto, así como del material de empaque evitándose su recontaminación. En cuanto al desarrollo de mesófilos aerobios se encontró que, a temperaturas de congelación (-20°C), en el MCP sólo se observó crecimiento en el día 14, debido quizás a una contaminación durante el análisis, pero los demás días no se presentó ninguna contaminación. Para el MSP se observó un desarrollo constante a partir del día 22 en adelante. Para el mousse almacenado a temperatura ambiente (25°C) el desarrollo microbiológico se presentó a partir del día 3 para el MCP y para el día 2 para el MSP; sin embargo, de acuerdo con la norma NOM-243-SSA1-2010 (DOF, 2010) para helados y sorbetes el límite máximo de mesófilos aerobios es de 20×10^4 UFC/g, que es lo más cercano al producto estudiado. Por ello, las muestras almacenadas a -20 y 4°C todavía podrían ser consideradas como seguras para el consumo ya que los mesófilos aerobios a concentraciones mayores a las permitidas por la NOM-243 indican la posible presencia de microorganismos patógenos. El desarrollo de levaduras para el MCP y el MSP almacenados a 25°C sobrepasó los límites permitidos por la NOM mencionada en el párrafo anterior, en la cual se establecen 500 UFC/g, por lo que esto podría acelerar el deterioro del mousse. Para las muestras del MSP almacenadas a las temperaturas de -20 y de 4°C el desarrollo de

lavaduras se produjo a partir del día 14 y 8, respectivamente, sin rebasando los límites permitidos por la NOM-243 hasta el día 25 para la muestra almacenada a 4°C. Sin embargo, para el MCP sólo se observó desarrollo de levaduras a partir del día 9 para la muestra almacenada a 4°C rebasando los límites permitidos hasta el día 25.

Tabla 28: Resultados obtenidos del análisis microbiológico del mousse con pigmentos (MCP) y del mousse sin pigmentos (MSP) durante la evaluación sensorial reportados como unidades formadoras de colonias (UFC/g)

	Muestra	MCP 25°C	MCP 4°C	MCP -20°C	MSP 25°C	MSP 4°C	MSP -20°C
Día	Microorganismos						
0	Coliformes totales	<100 VE	<100 VE	<100 VE	<100 VE	<100 VE	<100 VE
	Mesófilos aerobios	<100 VE	<100 VE	<100 VE	<100 VE	<100 VE	<100 VE
	Levaduras	<100 VE	<100 VE	<100 VE	<100 VE	<100 VE	<100 VE
1	Coliformes totales	<100 VE			<100 VE		
	Mesófilos aerobios	<100 VE			20 x 10 ³		
	Levaduras	97x10 ³			22 x 10 ³		
2	Coliformes totales	<100 VE			<100 VE		
	Mesófilos aerobios	32 x10 ²			21 x 10 ⁴		
	Levaduras	10 x10 ²			32 x10 ³		
7	Coliformes totales	<100 VE	<100 VE	<100 VE	<100 VE	<100 VE	<100 VE
	Mesófilos aerobios	<100 VE	<100 VE	<100 VE	<100 VE	10 x 10 ²	<100 VE
	Levaduras	<100 VE	<100 VE	<100 VE	<100 VE	<100 VE	<100 VE
8	Coliformes totales		<100 VE			<100 VE	
	Mesófilos aerobios		<100 VE			33 x 10 ²	
	Levaduras		<100 VE			4 x10 ² VE	
9	Coliformes totales		<100 VE			<100 VE	
	Mesófilos aerobios		<100 VE			<100 VE	
	Levaduras		6 x 10 ¹ VE			2 x 10 ² VE	
14	Coliformes totales	<100 VE	<100 VE	<100 VE	<100 VE	<100 VE	<100 VE
	Mesófilos aerobios	10 x10 ⁵	20 X 10 ¹	10 X 10 ¹	26 x 10 ³	22 x 10 ³	<100 V.E
	Levaduras	10 x10 ³	20 x 10 ¹	<100 VE	24 x 10 ³	3 x 10 ²	20 x 10 ¹
22	Coliformes totales	<100 VE	<100 VE	<100 VE	<100 VE	<100 VE	<100 VE
	Mesófilos aerobios	26 x 10 ³	10 x 10 ²	<100 VE	<100 VE	24 x 10 ³	25 x 10 ³
	Hongos	<100 VE	10 x10 ³	<100 VE	<100 VE	<100 VE	<100 VE
	Levaduras	28 x 10 ²	<100 VE	<100 VE	<100 VE	49 x 10 ¹	<100 VE
25	Coliformes totales	<100 VE	<100 VE	<100 VE	<100 VE	<100 VE	<100 VE
	Mesófilos aerobios	73 x 10 ⁴	60 x 10 ²	<100 VE	10 x 10 ⁵	40 x 10 ³	20 x 10 ³
	Levaduras	10 x 10 ⁴	45 x 10 ²	<100 VE	89 x 10 ⁴	20 x 10 ²	<100 VE

VE = valor estimado. MCP= Mousse con pigmentos carotenoides (astaxantina). MSP= Mousse sin pigmentos carotenoides

Bacterias mesófilicas aerobias en placa en agar cuenta estándar incubadas por 24 h a 37°C

Bacterias coliformes totales en placa en agar bilis rojo violeta incubadas por 24 h a 37°C

Hongos y levaduras en placa en agar papa dextrosa incubadas por 4 ó 5 días a 28°C

Los límites permitidos por la NOM 243 para mesófilos aerobios son: 20 x 10⁴ UFC/g

Los límites permitidos por la NOM 234 para hongos y levaduras son 500 UFC/g

Los espacios en blanco indican los días que no hubo una evaluación sensorial y, por consiguiente, no hubo determinación microbiológica

4.9.5. Vida de anaquel del mousse de salmón con pigmentos carotenoides

De acuerdo con los resultados obtenidos al calcular la vida de anaquel mediante el modelo cinético que se presentan en la Tabla 29, la vida de anaquel aumentó conforme disminuyó la temperatura de almacenamiento, encontrándose que a temperatura de refrigeración la vida de anaquel fue de 33 días para el parámetro de acidez y de 28 días para la oxidación lipídica del mousse de salmón.

Tabla 29: Vida de anaquel del mousse de salmón con pigmentos carotenoides (astaxantina)

Parámetro de calidad	Acidez		Hidroperóxidos	
	Días	Meses	Días	Meses
T (°C)				
-20	51.78	1.72	46.88	1.56
-10	42.59	1.41	37.88	1.25
4	33.17	1.10	28.43	0.94
15	27.72	0.92	23.24	0.77
20	25.67	0.85	21.31	0.71
28	22.81	0.76	18.67	0.62

Fórmula utilizada para el cálculo de vida de anaquel $t = \ln(D_0/D_i)$

Debido a que las pruebas de vida de anaquel consisten básicamente en seleccionar la característica de calidad que se deteriora más rápidamente, de acuerdo con los resultados que se muestran en la Tabla 29, la vida de anaquel del mousse de salmón estaría determinada por la formación de hidroperóxidos, encontrándose que a temperatura de refrigeración la vida de anaquel del mousse de salmón fué de 28 días conservando sus características sensoriales. Sin embargo, las características microbiológicas se perdieron a partir del día 25 debido a un desarrollo de levaduras superiores a lo permitido por la NOM-243, mientras que para el mousse de salmón almacenado a temperatura de congelación la vida de anaquel fue de 46 días conservándose sus características sensoriales y microbiológicas hasta el día 25. Por lo que al tomar en cuenta los parámetros microbiológicos, la vida de anaquel del mousse almacenado a temperatura de refrigeración es de 21 días ya a los 25 días de estudio rebasa los límites permitidos para levaduras que después de este tiempo no es seguro para el consumo. Mientras que, para la muestra almacenada a temperatura de congelación se mantienen las características tanto microbiológicas como sensoriales por lo que incluso podría tener una vida de anaquel mayor a 46 días, sin embargo se recomendaría ampliar el tiempo de estudio para poder establecerla.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

Con base en el objetivo general que fue el de: Extraer la máxima cantidad de pigmentos naturales ricos en carotenoides (astaxantina) partiendo de harina de cefalotórax de dos especies de camarón (camarón café y camarón cristal), empleando para ello aceite vegetal comestible para lograr su incorporación en un alimento de consumo humano” se tienen las siguientes conclusiones:

- ☆ La composición química del cefalotórax de camarón entre ambas especies evaluadas resultó ser significativamente diferentes con excepción del contenido de cenizas. Las posibles diferencias encontradas entre especies fueron debido al tipo de dieta y a la especie misma. Encontrándose una mayor desmineralización al disminuir el tamaño de partícula.
- ☆ El rendimiento en la extracción de los pigmentos carotenoides (astaxantina) se vio afectado significativamente por el tipo de especie estudiada, por el tiempo de extracción y por el tamaño de partícula analizada, encontrándose que las condiciones óptimas de extracción de los pigmentos carotenoides (astaxantina) fueron: harina de camarón café (*F. aztecus*) con un tamaño de partícula de malla 80 con un tiempo de extracción de 30 minutos.
- ☆ La presencia de oxígeno, luz y el aumento de la temperatura fueron factores que aumentaron la degradación de la astaxantina y la oxidación lipídica del pigmento, por lo cual, deben tomarse en cuenta con el objetivo de mantener la calidad de los pigmentos por un mayor tiempo.
- ☆ El oxígeno resultó ser el principal factor que intervino en la degradación de los pigmentos carotenoides (astaxantina) y en la formación de hidroperóxidos durante la evaluación del efecto de las condiciones de almacenamiento.
- ☆ Se encontró que los pigmentos carotenoides (astaxantina) extraídos del cefalotórax de camarón impartieron una mayor protección contra la oxidación del aceite de girasol, aún después de ser sometido a un tratamiento térmico de 80°C, cuando el pigmento fue almacenado a temperatura de 40°C por lo que la astaxantina presentó un efecto antioxidante en el aceite de girasol.

- ☆ La vida de anaquel del pigmento extraído del cefalotórax de camarón, tomando como factor determinante de calidad la oxidación lipídica, fue de 24.56 días almacenado a temperatura de refrigeración de 4°C al resguardo de la luz y el oxígeno, la cual fue muy corta para su posible comercialización.
- ☆ Fue posible la incorporación de los pigmentos carotenoides (astaxantinas) obtenidos del cefalotórax de camarón en un mousse de salmón, lográndose enmascarar el olor y sabor del camarón ya que fue preferido de la misma manera que al que no se le adicionó ningún tipo de pigmento.
- ☆ Fue posible la obtención de una coloración mayor a la del mousse de referencia sin presentarse alguna diferencia significativa al ser comparado con el salmón enlatado. Esto se logró al adicionarse el extracto oleoso a las concentraciones de 3.44 y 4.27% al producto, por lo que se logró recuperar el color perdido debido al procesamiento de elaboración del mousse de salmón siendo una alternativa natural para pigmentar este tipo de productos.
- ☆ Se encontró que el *cut-off point* del mousse de salmón con pigmentos carotenoides a 25°C fue de 2 días, mientras que las muestras almacenadas a -20 y a 4°C no se logró detectar el *cut-off-point* en el tiempo de realización de esta prueba.
- ☆ La vida de anaquel del mousse de salmón tomando como parámetro de calidad la formación de hidroperóxidos así como sus características sensoriales y microbiológicas fue de 21 días a temperatura de refrigeración, mientras que a temperatura de congelación la vida de anaquel resultó de 46 días manteniendo sus características sensoriales y microbiológicas adecuadas.
- ☆ El cambio de coloración en el mousse de salmón con pigmentos carotenoides (astaxantinas) durante el almacenamiento no fue significativo para los valores de a^* y b^* , obteniéndose aún valores más altos debido a la concentración de los pigmentos al evaporarse el agua de la muestra, sin embargo la variación de ambos valores hizo que el cambio de coloración tomara ángulos de tonalidades más rojas, resultando ser este cambio significativo.

5.2. Recomendaciones

Con base en los resultados obtenidos en esta investigación, para su continuación se recomienda lo siguiente:

- ❖ Para aumentar la estabilidad de la astaxantina en el pigmento es recomendable que el secado del cefalotórax de camarón se realice a temperaturas mayores a 80°C en un menor tiempo para evitar la esterificación de la astaxantina la cual es más susceptible de ser degradada.
- ❖ Para obtener valores más exactos de la vida de anaquel del pigmento se recomienda ampliar el tiempo de evaluación de la degradación de la astaxantina y oxidación lipídica o aumentar la temperatura de almacenamiento para acelerar la oxidación del aceite.
- ❖ Es recomendable realizar más formulaciones en las que se les adicione una mayor concentración de pigmentos carotenoides (astaxantinas) quizás extraídas de otras especies marinas como los cangrejos, jaibas, etc., con el objetivo de recuperar en mayor medida la coloración que pierde el salmón debido al tratamiento térmico del enlatado.
- ❖ También se recomienda disminuir el sabor y aroma a camarón del aceite pigmentado extraído empleando algún adsorbente o deodorizante como carbón activado con el objetivo de que pueda ser utilizado en otros productos que no sean de origen marino.
- ❖ El envase utilizado no resultó ser el más adecuado ya que presentó permeabilidad a la humedad a temperatura de refrigeración y de congelación por lo que es recomendable utilizar otro tipo de envase.

ANEXO 1

Análisis estadístico:

Análisis bromatológico de harinas de cefalotórax de camarón café y cristal entera y desmineralizada

Tabla 30 : Análisis de varianza factorial referente al contenido de cenizas de la harina de cefalotórax de camarón

Fuente	SC	GI	CM	F-Ratio	P-Value
Efecto principal					
A:Especie	0.015	1	0.015	0.02	0.8886
B:Tipo de harina	1974.36	1	1974.36	2648.13	0.0000
C:Tamaño de partícula	33.748	1	33.748	45.27	0.0000
RESIDUAL	14.911	20	0.745		
TOTAL (Corregida)	2023.03	23			

SC=Suma de cuadrados, GI= grados de libertad, CM=cuadrado medio, *Nivel de significancia de 0.05, condición= condiciones de almacenamiento. Tipo de harina: entera y desmineralizada.

Tabla 31 :Prueba de Tukey referente al contenido de cenizas de la harina de cefalotórax de camarón para el factor tipo de harina

Nivel	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
HD	12	5.11833	0.24926	X
HE	12	23.2583	0.24926	X
Contraste		Diferencia	+/- Límites	
HD - HE		*-18.14	0.735318	

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05. HD= harina desmineralizada, HE= Harina entera

Tabla 32:Prueba de Tukey referente al contenido de cenizas de la harina de cefalotórax de camarón para el factor tamaño de partícula

Nivel	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
80	12	13.0025	0.24926	X
40	12	15.3742	0.24926	X
Contraste		Diferencia	+/- Límites	
40 - 80		*2.37167	0.735318	

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05. Tamaño de partícula 40 (0.42 mm) y 80 (0.150-0.177 mm)

Tabla 33: Análisis de varianza factorial referente al contenido de grasa de la harina de cefalotórax de camarón

Fuente	SC	GI	CM	F-Ratio	P-Value
Efecto principal					
A:Especie	1.4065	1	1.4065	7.74	0.0115
B:Tipo de harina	3.72094	1	3.72094	20.49	0.0002
C:Tamaño de partícula	0.525104	1	0.525104	2.89	0.1046
RESIDUAL	3.63235	20	0.181618		
TOTAL (Corregida)	9.2849	23			

SC=Suma de cuadrados, GI= grados de libertad, CM=cuadrado medio, *Nivel de significancia de 0.05, condición= condiciones de almacenamiento. Tipo de harina: entera y desmineralizada.

Tabla 34:Prueba de Tukey referente al contenido de grasa de la harina de cefalotórax de camarón para el factor especie

Nivel	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
Café	12	5.06083	0.123024	X
Cristal	12	5.545	0.123024	X
Contraste		Diferencia	+/- Límites	
Café - Cristal		*-0.484167	0.36292	

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05.

Tabla 35: Prueba de Tukey referente al contenido de grasa de la harina de cefalotórax de camarón para el factor tipo de harina

Nivel	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
HE	12	4.90917	0.123024	X
HD	12	5.69667	0.123024	X
Contraste		Diferencia	+/- Límites	
HD - HE		*0.7875	0.36292	

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05. HD= harina desmineralizada, HE= Harina entera

Tabla 36: Análisis de varianza factorial referente al contenido de proteína de la harina de cefalotórax de camarón

Fuente	SC	GI	CM	F-Ratio	P-Value
Efecto principal					
A: Especie	35.478	1	35.478	56.04	0.0000
B: Tipo de harina	24.9696	1	24.969	39.44	0.0000
C: Tamaño de partícula	3.24135	1	3.241	5.12	0.0349
RESIDUAL	12.6613	20	0.633		
TOTAL (Corregida)	76.3503	23			

SC=Suma de cuadrados, GI= grados de libertad, CM=cuadrado medio, *Nivel de significancia de 0.05, condición= condiciones de almacenamiento. Tipo de harina: entera y desmineralizada.

Tabla 37: Prueba de Tukey referente al contenido de proteína de la harina de cefalotórax de camarón para el factor tamaño de partícula

Nivel	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
40	12	47.92	0.229685	X
80	12	48.655	0.229685	X
Contraste		Diferencia	+/- Límites	
40 - 80		*-0.735	0.677573	

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05. Tamaño de partícula 40 (0.42 mm) y 80 (0.150-0.177 mm)

Tabla 38: Prueba de Tukey referente al contenido de proteína de la harina de cefalotórax de camarón para el factor especie

Nivel	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
Café	12	47.0717	0.229685	X
Cristal	12	49.5033	0.229685	X
Contraste		Diferencia	+/- Límites	
Café - Cristal		*-2.43167	0.677573	

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05.

Tabla 39: Prueba de Tukey referente al contenido de proteína de la harina de cefalotórax de camarón para el factor tipo de harina

Nivel	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
HE	12	47.2675	0.229685	X
HD	12	49.3075	0.229685	X
Contraste		Diferencia	+/- Límites	
HD - HE		*2.04	0.677573	

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05. HD= harina desmineralizada, HE= Harina entera

Tabla 40: Análisis de varianza factorial referente al contenido de fibra de la harina de cefalotórax de camarón

Fuente	SC	GI	CM	F-Ratio	P-Value
Efecto principal					
A: Especie	12.7604	1	12.7604	41.88	0.0000
B: Tipo de harina	7.8204	1	7.8204	25.66	0.0001
C: Tamaño de partícula	0.2440	1	0.2440	0.80	0.3815
RESIDUAL	6.0943	20	0.304717		
TOTAL (Corregida)	26.9192	23			

SC=Suma de cuadrados, GI= grados de libertad, CM=cuadrado medio, *Nivel de significancia de 0.05, condición= condiciones de almacenamiento. Tipo de harina: entera y desmineralizada.

Tabla 41: Prueba de Tukey referente al contenido de fibra de la harina de cefalotórax de camarón para el factor especie

Nivel	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
Café	12	16.685	0.159352	X
Cristal	12	18.1433	0.159352	X
Contraste		Diferencia	+/- Límites	
Café - Cristal		*-1.45833	0.470089	

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05.

Tabla 42: Prueba de Tukey referente al contenido de fibra de la harina de cefalotórax de camarón para el factor tipo de harina

Nivel	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
HE	12	16.8433	0.159352	X
HD	12	17.985	0.159352	X
Contraste		Diferencia	+/- Límites	
HD - HE		*1.14167	0.470089	

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05. HD= harina desmineralizada, HE= Harina entera

Tabla 43: Análisis de varianza factorial referente al contenido de Hidratos de carbono de la harina de cefalotórax de camarón

Fuente	SC	GI	CM	F-Ratio	P-Value
Efecto principal					
A: Especie	64.321	1	64.321	38.99	0.0000
B: Tipo de harina	1424.65	1	1424.65	863.57	0.0000
C: Tamaño de partícula	0.059	1	0.059	0.04	0.8519
RESIDUAL	32.9945	20	1.649		
TOTAL (Corregida)	1522.03	23			

SC=Suma de cuadrados, GI= grados de libertad, CM=cuadrado medio, *Nivel de significancia de 0.05, condición= condiciones de almacenamiento. Tipo de harina: entera y desmineralizada.

Tabla 44: Prueba de Tukey referente al contenido de Hidratos de carbono de la harina de cefalotórax de camarón para el factor tipo de harina

Nivel	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
HE	12	7.11167	0.370779	X
HD	12	22.5208	0.370779	X
Contraste		Diferencia	+/- Límites	
HD - HE		*15.4092	1.0938	

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05. HD= harina desmineralizada, HE= Harina entera

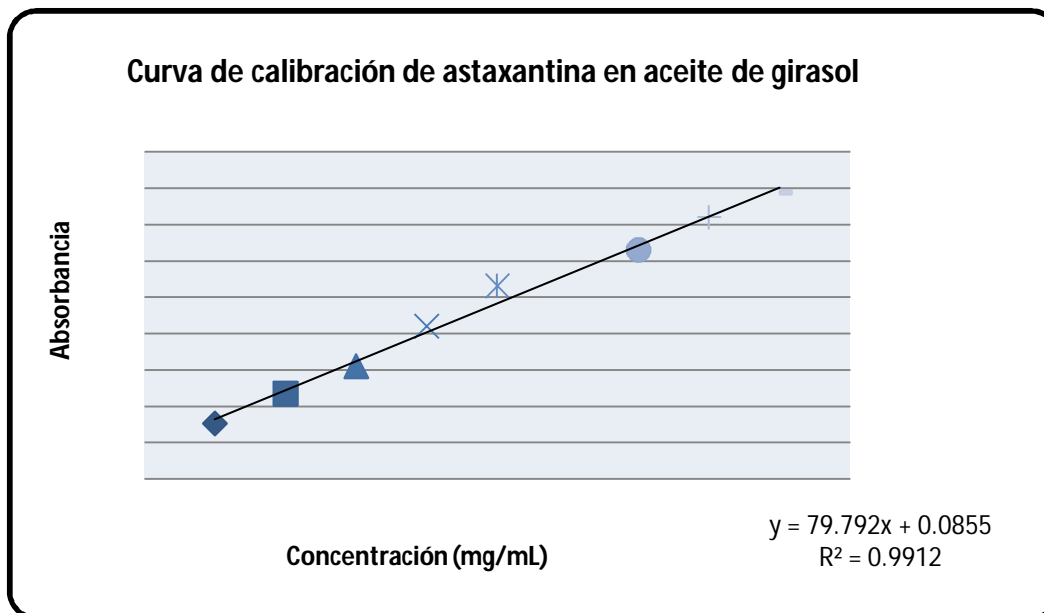
Tabla 45: Prueba de Tukey referente al contenido de Hidratos de carbono de la harina de cefalotórax de camarón para el factor especie

Nivel	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
Cristal	12	3.1792	0.370779	X
Café	12	16.4533	0.370779	X
Contraste		Diferencia	+/- Límites	
Café - Cristal		*3.27417	1.0938	

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05.

ANEXO 2

Curva de calibración utilizada para el cálculo de la concentración de astaxantina extraída del cefalotórax de camarón



Gráfica 31: Curva de calibración de la astaxantina en aceite de girasol

ANEXO 3

Análisis estadístico:

Extracción de pigmentos carotenoides (astaxantina) del cefalotórax de camarón

Tabla 46: Análisis de varianza* referente a la concentración de astaxantina con diferentes factores

Fuente	SC	Gl.	CM	F-ratio	P-Value	Resultado
A: Tiempo	627.668	3	209.223	62.47	0.0000	Si hay diferencia significativa
B: Especie	222.923	1	222.923	66.56	0.0000	Si hay diferencia significativa
C: Tamaño de partícula	17324.3	1	17324.3	5172.75	0.0000	Si hay diferencia significativa
Interacción						
AB	13.315	3	4.438	1.33	0.2833	No hay diferencia significativa
AC	624.886	3	208.29	62.19	0.0000	Si hay diferencia significativa
BC	4324.58	1	4324.58	1291.25	0.0000	Si hay diferencia significativa
ABC	5.063	3	1.687	0.50	0.6823	No hay diferencia significativa
Residual	107.173	32	3.34			
Total	23249.9	47				

SC=Suma de cuadrados, Gl= grados de libertad, CM=cuadrado medio, *Nivel de significancia de 0.05

Tabla 47: Prueba de Tukey referente a la concentración de astaxantina para tiempo de extracción

Tiempo	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous groups
120	12	51.007	0.5282	X
15	12	54.873	0.52.82	Xx
60	12	55.689	0.52.82	X
30	12	61.140	0.5282	x
Contraste	Diferencia	+/- Límites		
15-30	*-6.26	2.0245		
15-60	-0.81	2.0245		
15-120	*-3.86	2.0245		
30-60	*-5.45	2.0245		
30-120	*-10.13	2.0245		
60-120	*4.68	2.0245		

*Existe diferencia significativa. Nivel de significancia del 0.05

ANEXO 4

Análisis estadístico:

Modelo General Lineal (MGL) de la degradación de la astaxantina

Tabla 48: Análisis de varianza referente a la degradación de la astaxantina

Fuente	SC	GI	CM	F-Ratio	P-Value
Modelo	4364.09	4	1091.02	101.59	0.0000
Residual	1234.99	115	10.7391		
Total (Corr.)	5599.08	119			

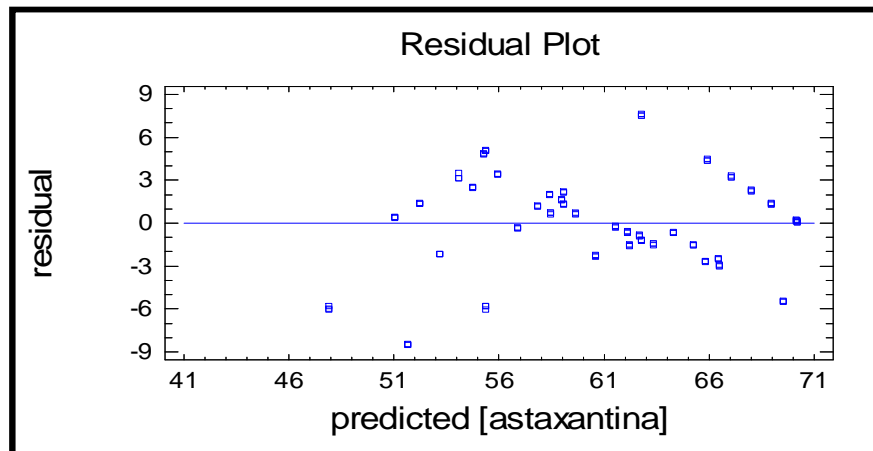
SC=Suma de cuadrados, GI= grados de libertad, CM=cuadrado medio, *Nivel de significancia de 0.05

Tabla 49: Suma de Cuadrados para cada variable independiente de la degradación de la astaxantina

Fuente	SC	GI	CM	F-Ratio	P-Value
Oxígeno	516.928	1	516.928	48.14	0.0000
Luz	273.183	1	273.183	25.44	0.0000
Temperatura	396.77	1	396.77	36.95	0.0000
Tiempo	3314.85	1	3314.85	308.67	0.0000
Residual	1234.99	115	10.7391		
Total (corrected)	5599.08	119			

SC=Suma de cuadrados, GI= grados de libertad, CM=cuadrado medio, *Nivel de significancia de 0.05

Comprobación del modelo por medio de residuales



Gráfica 32: Gráfica de residuales de la degradación de la astaxantina

Análisis multivariante de las variables dependientes

MANOVA para la variable oxígeno

Wilks' lambda = 0.704936 F = 48.1353 P-value = 2.36063E-7
 Pillai trace = 0.295064 F = 48.1353 P-value = 2.36063E-7
 Hotelling-Lawley trace = 0.418568 F = 48.1353 P-value = 2.36063E-7
 Roy's greatest root = 0.418568 s = 1 m = -0.5 n = 56.5

MANOVA para la variable luz

Wilks' lambda = 0.818865 F = 25.4382 P-value = 0.00000190915
 Pillai trace = 0.181135 F = 25.4382 P-value = 0.00000190915
 Hotelling-Lawley trace = 0.221202 F = 25.4382 P-value = 0.00000190915
 Roy's greatest root = 0.221202 s = 1 m = -0.5 n = 56.5

MANOVA para la variable Temperatura

Wilks' lambda = 0.756846 F = 36.9464 P-value = 2.31065E-7
 Pillai trace = 0.243154 F = 36.9464 P-value = 2.31065E-7
 Hotelling-Lawley trace = 0.321273 F = 36.9464 P-value = 2.31065E-7
 Roy's greatest root = 0.321273 s = 1 m = -0.5 n = 56.5

MANOVA para la variable tiempo

Wilks' lambda = 0.271436 F = 308.672 P-value = 0.0
 Pillai trace = 0.728564 F = 308.672 P-value = 0.0
 Hotelling-Lawley trace = 2.6841 F = 308.672 P-value = 0.0
 Roy's greatest root = 2.6841 s = 1 m = -0.5 n = 56.5

ANEXO 5

Análisis estadístico:

Modelo General Lineal (MGL) de la oxidación lipídica del pigmento

Tabla 50: Análisis de varianza referente a la oxidación lipídica del pigmento

Fuente	SC	GI	CM	F-Ratio	P-Value
Modelo	0.152032	4	0.038008	48.87	0.0000
Residual	0.0583308	75	0.000777		
Total (Corr.)	0.210363	79			

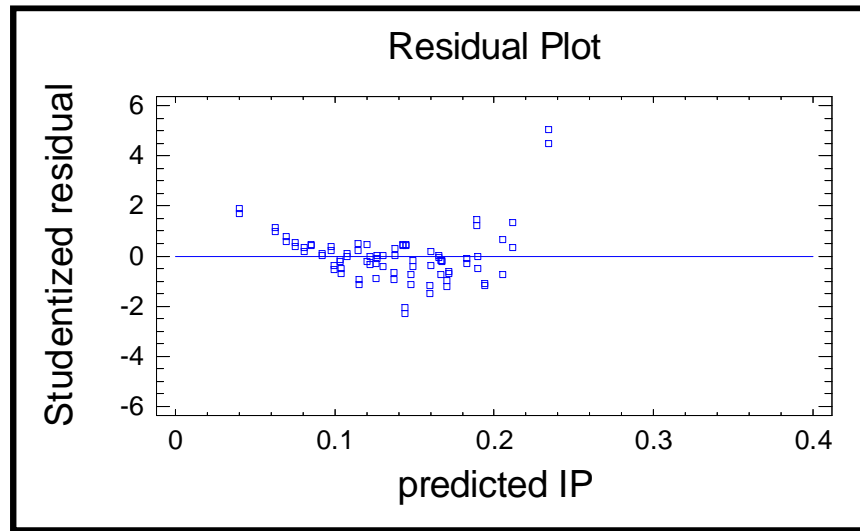
SC=Suma de cuadrados, GI= grados de libertad, CM=cuadrado medio, *Nivel de significancia de 0.05

Tabla 51: Suma de Cuadrados referente a cada variable independiente de la oxidación lipídica del pigmento

Fuente	SC	GI	CM	F-Ratio	P-Value
Oxígeno	0.029958	1	0.029958	38.52	0.0000
Luz	0.0156829	1	0.0156829	20.16	0.0000
Tiempo	0.0813153	1	0.0813153	104.55	0.0000
Temperatura	0.0341707	1	0.0341707	43.94	0.0000
Residual	0.0583308	75	0.000777		
Total (corrected)	0.210363	79			

SC=Suma de cuadrados, GI= grados de libertad, CM=cuadrado medio, *Nivel de significancia de 0.05

Comprobación del modelo por medio de residuales



Gráfica 33: Gráfica de residuales de la oxidación lipídica del pigmento

Análisis multivariante de las variables dependientes

MANOVA for A

Wilks' lambda = 0.707679 F = 26.8496 P-value = 0.00000255207
Pillai trace = 0.292321 F = 26.8496 P-value = 0.00000255207
Hotelling-Lawley trace = 0.41307 F = 26.8496 P-value = 0.00000255207
Roy's greatest root = 0.41307 s = 1 m = -0.5 n = 31.5

MANOVA for B

Wilks' lambda = 0.827205 F = 13.5778 P-value = 0.000468526
Pillai trace = 0.172795 F = 13.5778 P-value = 0.000468526
Hotelling-Lawley trace = 0.208889 F = 13.5778 P-value = 0.000468526
Roy's greatest root = 0.208889 s = 1 m = -0.5 n = 31.5

MANOVA for C

Wilks' lambda = 0.448302 F = 79.9916 P-value = 6.22169E-13
Pillai trace = 0.551698 F = 79.9916 P-value = 6.22169E-13
Hotelling-Lawley trace = 1.23064 F = 79.9916 P-value = 6.22169E-13
Roy's greatest root = 1.23064 s = 1 m = -0.5 n = 31.5

MANOVA for D

Wilks' lambda = 0.714687 F = 25.9489 P-value = 0.00000344973
Pillai trace = 0.285313 F = 25.9489 P-value = 0.00000344973
Hotelling-Lawley trace = 0.399213 F = 25.9489 P-value = 0.00000344973
Roy's greatest root = 0.399213 s = 1 m = -0.5 n = 31.5

ANEXO 6

Análisis estadístico:

Parámetros cinéticos de la degradación de astaxantina en el pigmento

Tabla 52: Análisis de varianza factorial referente a la velocidad de degradación de la astaxantina

Fuente	SC	GI	CM	F-Ratio	P-Value
Efecto principal					
A:Condición	0.0	2	0.0	50.67	0.0000
B:Temperatura	0.0	2	0.0	156.00	0.0000
RESIDUAL	0.0	16	0.0		
TOTAL (CORRECTED)	0.0	20			

SC=Suma de cuadrados, GI= grados de libertad, CM=cuadrado medio, *Nivel de significancia de 0.05, condición= condiciones de almacenamiento

Tabla 53: Prueba de Tukey referente al efecto de las condiciones de almacenamiento en la velocidad de degradación de astaxantina

Nivel	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
Referencia	9	6.E-7	1.44338E-8	X
Luz	6	7.E-7	2.04124E-8	X
Oxígeno	6	8.5E-7	2.04124E-8	X
Contraste		Diferencia	+/- Límites	
Referencia - Luz		*-1.E-7	6.48045E-8	
Referencia - Oxígeno		*-2.5E-7	6.48045E-8	
Luz - Oxígeno		*-1.5E-7	6.48045E-8	

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05.

Tabla 54: Prueba de Tukey referente al efecto de la temperatura en la velocidad de degradación de astaxantina

Temperatura	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
4°C	9	4.66667E-7	1.44338E-8	X
25°C	9	6.66667E-7	1.44338E-8	X
40°C	3	0.00000101	2.88675E-8	X
Contraste		Diferencia	+/- Límites	
4°C – 25°C		*-2.E-7	5.29127E-8	
4°C – 40°C		*-5.5E-7	8.36623E-8	
25°C – 40°C		*-3.5E-7	8.36623E-8	

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05.

Tabla 55: Análisis de varianza referente a la energía de activación para la degradación de la astaxantina bajo diferentes condiciones de almacenamiento

Fuente	SC	GI	CM	F-Ratio	P-Value
Entre los grupos	123.588	2	61.793	101.59	0.0000
Dentro de los grupos	0.0004	6	0.00006		
Total (Corr.)	123.588	8			

SC=Suma de cuadrados, GI=grados de libertad, CM=cuadrado medio, *Nivel de significancia de 0.05

Tabla 56: Prueba de rango múltiple LSD referente a la energía de activación bajo diferentes condiciones de almacenamiento

Nivel	Count	Media	Grupos homogéneos
Oxígeno	3	9.4233	X
Referencia	3	15.4433	X
Luz	3	18.3167	X
Contraste		Diferencia	+/- Límites
Luz - Oxígeno		*8.89333	0.0163128
Luz - Referencia		*2.87333	0.0163128
Oxígeno – Referencia		*-6.02	0.0163128

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05

ANEXO 7

Análisis estadístico:

Parámetros cinéticos de la oxidación lipídica del pigmento

Tabla 57: Análisis de varianza factorial referente a la velocidad de oxidación lipídica del pigmento

Fuente	SC	GI	CM	F-Ratio	P-Value
Efecto principal					
A:Condición	4.5x10 ⁻¹²	2	2.26 x10 ⁻¹²	37.72	0.0000
B:Temperatura	0.0	2	0.0	6.78	0.0160
RESIDUAL	0.0	9	0.0		
TOTAL (Corregido)	8.74 x10 ⁻¹²	13			

SC=Suma de cuadrados, GI=grados de libertad, CM=cuadrado medio, *Nivel de significancia de 0.05, condición= condiciones de almacenamiento

Tabla 58: Prueba de Tukey referente al efecto de las condiciones de almacenamiento en la velocidad de oxidación lipídica del pigmento

Nivel	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
Referencia	4	3.1E-7	1.4142E-7	X
Luz	4	4.1E-7	1.4141E-7	X
Oxígeno	6	1.6E-6	1.-7	X
Contraste		Diferencia	+/- Límites	
Luz - Oxígeno		*-1.E-7	4.835E-7	
Luz – Referencia		*-2.5E-7	4.8353E-7	
Oxígeno – Referencia		*-1.5E-7	4.8353E-8	

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05

Tabla 59: Prueba de Tukey referente al efecto de la temperatura en la velocidad de oxidación lipídica del pigmento

Temperatura	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
4°C	6	4.3333E-7	1.E-7	X
25°C	6	8.3333E-7	1.E-7	X
40°C	2	1.01E-6	2.E-8	X
Contraste		Diferencia	+/- Límites	
4°C – 25°C		*-4.E-7	3.948E-8	
4°C – 40°C		*-7.E-7	6.242E-8	
25°C – 40°C		-3.E-7	6.242E-8	

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05

Tabla 60: Análisis de varianza de la energía de activación referente a la oxidación lipídica del pigmento bajo diferentes condiciones de almacenamiento.

Fuente	SC	GI	CM	F-Ratio	P-Value
Entre los grupos	100.918	2	50.4588	13951.75	0.0000
Dentro de los grupos	0.01085	3	0.00361		
Total (Corr.)	100.928	5			

SC=Suma de cuadrados, GI= grados de libertad, CM=cuadrado medio, *Nivel de significancia de 0.05

Tabla 61: Prueba de rango múltiple LSD de la energía de activación referente a la oxidación lipídica de las diferentes condiciones de almacenamiento

Nivel	Count	Media	Grupos homogéneos
Oxígeno	2	13.32	X
Referencia	2	14.72	X
Luz	2	22.63	X
Contraste		Diferencia	+/- Límites
Luz - Oxígeno		*9.315	0.1913
Luz - Referencia		*7.915	0.1913
Oxígeno – Referencia		*-1.40	0.1913

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05

ANEXO 8

Análisis estadístico: Efecto antioxidante

Tabla 62: Análisis de varianza referente al efecto antioxidante de la astaxantina

Fuente	SC	GI	CM	F-Ratio	P-Value
Efectos principales					
A: Antioxidante	113.083	1	113.083	10.26	0.0018
B: Temperatura	279.19	2	139.595	12.67	0.0000
C: Tiempo	231.21	5	46.2421	4.20	0.0017
RESIDUAL	1090.88	99	11.019		
TOTAL (Corregida)	1714.36	107			

SC=Suma de cuadrados, GI=grados de libertad, CM=cuadrado medio, *Nivel de significancia de 0.05

Tabla 63: Prueba de Tukey referente al efecto de la temperatura en la formación de hidroperóxidos

Temperatura	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
4°C	36	0.242526	0.553248	X
25°C	36	0.294897	0.553248	X
40°C	36	3.67911	0.553248	X
Contraste	Diferencia	+/- Límites		
4°C – 25°C	-0.052371	1.86176		
4°C – 40°C	*-3.43659	1.86176		
25°C – 40°C	*-3.38422	1.86176		

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05

Tabla 64: Prueba de Tukey referente al efecto de la presencia de antioxidante en la formación de hidroperóxidos

Antioxidante	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
Presencia	54	0.382251	0.451725	X
Ausencia	54	2.42877	0.451725	X
Contraste	Diferencia	+/- Límites		
Ausencia - Presencia	*2.04652	1.26759		

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05

Tabla 65: Prueba de Tukey referente al efecto del tiempo en la formación de hidroperóxidos

Tiempo (Días)	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
0	18	0.152235	0.782411	X
7	18	0.280996	0.782411	X
14	18	0.392945	0.782411	X
20	18	0.772228	0.782411	XX
28	18	2.92308	0.782411	XX
32	18	3.91159	0.782411	X
Contraste	Diferencia	+/- Límites		
0 - 7	-0.12876	3.21566		
0 - 14	-0.240709	3.21566		
0 - 20	-0.619993	3.21566		
0 - 28	-2.77084	3.21566		
0 - 32	*-3.75936	3.21566		
7 - 14	-0.111949	3.21566		
7 - 20	-0.491232	3.21566		
7 - 28	-2.64208	3.21566		
7 - 32	*-3.6306	3.21566		
14 - 20	-0.379283	3.21566		
14 - 28	-2.53013	3.21566		
14 - 32	*-3.51865	3.21566		
20 - 28	-2.15085	3.21566		
20 - 32	-3.13936	3.21566		
28 - 32	-0.988514	3.21566		

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05

ANEXO 9

Análisis estadístico:

Aplicación del pigmento en mousse de salmón

Tabla 66: Análisis de varianza referente a la comparación de las diferentes formulaciones del mousse de salmón para el valor L* del sistema CIELAB

Fuente	SC	GI	CM	F-Ratio	P-Value
Entre grupos	3651.41	5	730.282	188.29	0.0000
Dentro de los grupos	46.5421	12	3.87851		
Total (Corr.)	3697.95	17			

SC=Suma de cuadrados, GI=grados de libertad, CM=cuadrado medio, *Nivel de significancia de 0.05

Tabla 67: Prueba de rango múltiple referente al valor de L* del sistema CIELAB

Contraste	Diferencia	+/- Límites
F1 - F3	1.5171	3.50355
F1 - F4	2.48717	3.50355
F1 - FR	-1.2108	3.50355
F1 - Sc	*39.2925	3.50355
F1 - Se	*13.0036	3.50355
F3 - F4	0.970067	3.50355
F3 - FR	-2.7279	3.50355
F3 - Sc	*37.7754	3.50355
F3 - Se	*11.4865	3.50355
F4 - FR	*-3.69797	3.50355
F4 - Sc	*36.8053	3.50355
F4 - Se	*10.5165	3.50355
FR - Sc	*40.5033	3.50355
FR - Se	*14.2144	3.50355
Sc - Se	*-26.2888	3.50355

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05

Tabla 68: Análisis de varianza referente a la comparación de las diferentes formulaciones del mousse de salmón para el valor a* del sistema CIELAB

Fuente	SC	GI	CM	F-Ratio	P-Value
Entre los grupos	95.638	5	19.1276	35.74	0.0000
Dentro de los grupos	6.422	12	0.53522		
Total (Corr.)	102.061	17			

SC=Suma de cuadrados, GI=grados de libertad, CM=cuadrado medio, *Nivel de significancia de 0.05

Tabla 69: Prueba de rango múltiple referente al valor de a* del sistema CIELAB

Contrast	Difference	+/- Limits
F1 - F3	*-1.67597	1.30149
F1 - F4	*-2.26617	1.30149
F1 - FR	*2.65297	1.30149
F1 - Sc	*-4.9316	1.30149
F1 - Se	*-1.8596	1.30149
F3 - F4	-0.5902	1.30149
F3 - FR	*4.32893	1.30149
F3 - Sc	*-3.25563	1.30149
F3 - Se	-0.183633	1.30149
F4 - FR	*4.91913	1.30149
F4 - Sc	*-2.66543	1.30149
F4 - Se	0.406567	1.30149
FR - Sc	*-7.58457	1.30149
FR - Se	*-4.51257	1.30149
Sc - Se	*3.072	1.30149

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05

Tabla 70: Análisis de varianza referente a la comparación de las diferentes formulaciones del mousse de salmón para el valor b* del sistema CIELAB

Fuente	SC	GI	CM	F-Ratio	P-Value
Entre los grupos	152.089	5	30.4178	39.29	0.0000
Dentro de los grupos	8.51699	11	0.774272		
Total (Corr.)	160.606	16			

SC=Suma de cuadrados, GI= grados de libertad, CM=cuadrado medio, *Nivel de significancia de 0.05

Tabla 71: Prueba de rango múltiple referente al valor de b* del sistema CIELAB

Contraste	Diferencia	+/- Límites
F1 - F3	*-2.37757	1.58132
F1 - F4	*-3.3489	1.58132
F1 - FR	*2.94687	1.58132
F1 - Sc	*5.66192	1.76797
F1 - Se	*-1.98653	1.58132
F3 - F4	-0.971333	1.58132
F3 - FR	*5.32443	1.58132
F3 - Sc	*8.03948	1.76797
F3 - Se	0.391033	1.58132
F4 - FR	*6.29577	1.58132
F4 - Sc	*9.01082	1.76797
F4 - Se	1.36237	1.58132
FR - Sc	*2.71505	1.76797
FR - Se	*-4.9334	1.58132
Sc - Se	*-7.64845	1.76797

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05.

Tabla 72: Análisis de varianza referente a la comparación de las diferentes formulaciones de mousse de salmón para el valor C* del sistema CIELAB

Fuente	SC	GI	CM	F-Ratio	P-Value
Entre grupos	119.92	5	23.9839	38.78	0.0000
Dentro de los grupos	6.80332	11	0.618483		
Total (Corr.)	126.723	16			

SC=Suma de cuadrados, GI= grados de libertad, CM=cuadrado medio, *Nivel de significancia de 0.05

Tabla 73: Prueba de rango múltiple referente al valor de C* del sistema CIELAB

Contrast	Difference	+/- Limits
F1 - F3	*-2.7737	1.41331
F1 - F4	*-3.88573	1.41331
F1 - FR	*3.45853	1.41331
F1 - Sc	*1.94097	1.58013
F1 - Se	*-2.46637	1.41331
F3 - F4	-1.11203	1.41331
F3 - FR	*6.23223	1.41331
F3 - Sc	*4.71467	1.58013
F3 - Se	0.307333	1.41331
F4 - FR	*7.34427	1.41331
F4 - Sc	*5.8267	1.58013
F4 - Se	*1.41937	1.41331
FR - Sc	-1.51757	1.58013
FR - Se	*-5.9249	1.41331
Sc - Se	*-4.40733	1.58013

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05.

Tabla 74: Análisis de varianza referente a la comparación de las diferentes formulaciones de mousse de salmón para el valor h° del sistema CIELAB

Fuente	SC	GI	CM	F-Ratio	P-Value
Entre grupos	2209.18	5	441.836	110.18	0.0000
Dentro de los grupos		48.1197	12	4.00997	
Total (Corr.)			2257.3	17	

SC=Suma de cuadrados, GI= grados de libertad, CM=cuadrado medio, *Nivel de significancia de 0.05

Tabla 75: Prueba de rango múltiple referente al valor de h* del sistema CIELAB

Contrast	Difference	+/- Limits
F1 - F3	2.72617	3.56243
F1 - F4	3.37243	3.56243
F1 - FR	*-7.34597	3.56243
F1 - Sc	*28.4386	3.56243
F1 - Se	*3.62327	3.56243
F3 - F4	0.646267	3.56243
F3 - FR	*-10.0721	3.56243
F3 - Sc	*25.7124	3.56243
F3 - Se	0.8971	3.56243
F4 - FR	*-10.7184	3.56243
F4 - Sc	*25.0661	3.56243
F4 - Se	0.250833	3.56243
FR - Sc	*35.7845	3.56243
FR - Se	*10.9692	3.56243
Sc - Se	*-24.8153	3.56243

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05.

ANEXO 10
Círculo cromático

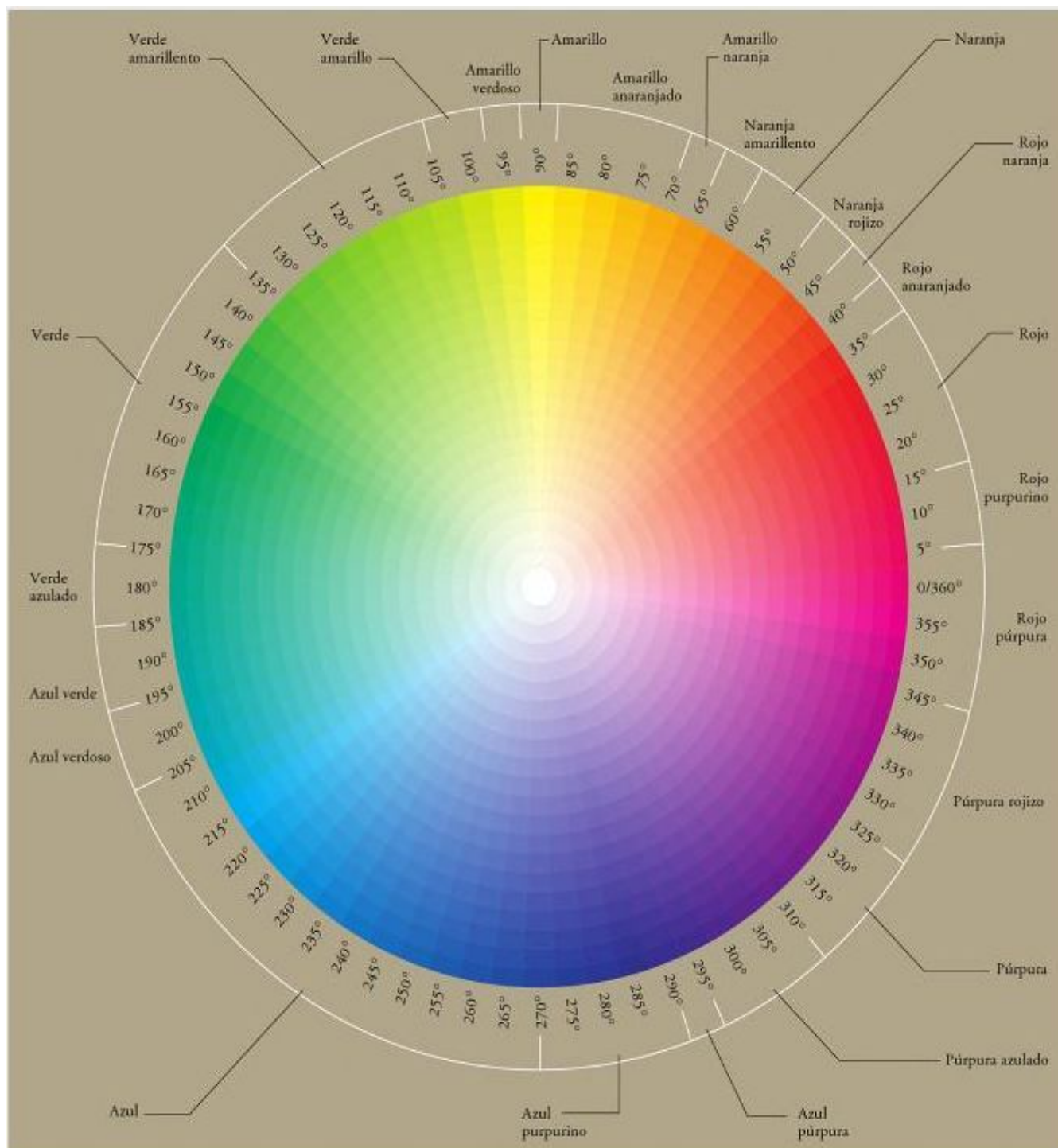


Imagen 15: Localización de las denominaciones correspondientes a las veinticuatro tonalidades principales en un círculo cromático de setenta y dos tonos distribuidos de acuerdo con el sistema CIELAB. Tomado de Sanz y Gallego (2001)

ANEXO 11

Cuestionario utilizado para la evaluación sensorial por medio de pruebas afectivas



FACULTAD DE QUÍMICA



Sexo: (Femenino) (Masculino) Edad: ____ Fecha: _____

Cuántas veces consume pescados y mariscos a la semana: _____

Qué producto (pescados o mariscos) consume con mayor frecuencia: _____ ¿Por qué? _____

¿Consumes salmón? Sí No

I) Instrucciones: frente a usted hay cuatro muestras de mousse de salmón, ordene en forma decreciente, de acuerdo a su criterio, cuál se parece más al color del salmón.

- 1.- _____
- 2.- _____
- 3.- _____
- 4.- _____

II) Instrucciones: pruebe las muestras en el orden indicado e indique con una "x" su nivel de agrado de acuerdo con la escala que se presenta a continuación, enjuagarse entre cada muestra.

Muestra				
Disgusta muchísimo				
Disgusta mucho				
Disgusta moderadamente				
Disgusta un poco				
Me es indiferente				
Gusta un poco				
Gusta moderadamente				
Gusta mucho				
Gusta muchísimo				

III) Instrucciones: Ordene según su preferencia de acuerdo a:

- 1.- _____
- 2.- _____
- 3.- _____
- 4.- _____

¡Muchas gracias!

ANEXO 12

Análisis estadístico: Análisis de varianza, andeva (ANOVA en inglés) de un factor de la prueba de nivel de agrado

Tabla 76. Análisis de varianza de la prueba nivel de agrado de las diferentes fórmulas de mousse de salmón

	SC	GI	CM	F calculada	F tablas
Muestras	10.25	3	3.41	0.95	2.623
Error	1119.54	312	3.58		
Total	1129.79	315			

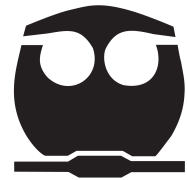
SC=Suma de cuadrados, GI= grados de libertad, CM=cuadrado medio, F= estadístico Fisher



ANEXO 13

Análisis discriminativo

Prueba triangular del mousse de salmón



Nombre:

Fecha:

Instrucciones: Se presenta ante usted 3 series de muestras codificadas de mousse de salmón. Pruebe cada una de las muestras, enjuagándose entre cada muestra, y encierre en un círculo la muestra diferente, siga el mismo procedimiento con las siguientes series. Gracias.

Serie 1
Serie 2
Serie 3

ANEXO 14

Análisis estadístico: Parámetros físico y químicos de la vida de anaquel del mousse de salmón con pigmentos carotenoides

Tabla 77: Análisis de varianza factorial referente al contenido de humedad del mousse de salmón con pigmentos carotenoides

Fuente	SC	DI	CM	F-Ratio	P-Value
Efectos principales					
A: Temperatura	213.586	2	106.793	14.77	0.0000
B: Tiempo	178.408	5	35.681	4.94	0.0011
RESIDUAL	332.486	46	7.227		
TOTAL (Corregida)	724.479	53			

SC=Suma de cuadrados, GI= grados de libertad, CM=cuadrado medio, *Nivel de significancia de 0.05

Tabla 78: Prueba de Tukey referente al efecto del tiempo en el contenido de humedad del mousse de salmón con pigmentos carotenoides

Tiempo	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
18	9	59.5835	0.896162	X
0	9	59.7436	0.896162	XX
7	9	59.8457	0.896162	XX
14	9	60.2528	0.896162	XXX
22	9	63.4771	0.896162	XX
25	9	63.8834	0.896162	X
Contraste	Diferencia	+/- Límites		
0 - 7	-0.102081	3.76827		
0 - 14	-0.50918	3.76827		
0 - 18	0.160101	3.76827		
0 - 22	-3.7335	3.76827		
0 - 25	*-4.13984	3.76827		
7 - 14	-0.407099	3.76827		
7 - 18	0.262182	3.76827		
7 - 22	-3.63142	3.76827		
7 - 25	*-4.03776	3.76827		
14 - 18	0.669281	3.76827		
14 - 22	-3.22432	3.76827		
14 - 25	-3.63066	3.76827		
18 - 22	*-3.8936	3.76827		
18 - 25	*-4.29994	3.76827		
22 - 25	-0.406332	3.76827		

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05

Tabla 79: Prueba de Tukey referente al efecto de la temperatura en el contenido de humedad del mousse de salmón con pigmentos carotenoides

Temperatura	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
25	18	58.9011	0.633682	X
4	18	60.7615	0.633682	X
-20	18	63.7304	0.633682	X
Contraste	Diferencia	+/- Límites		
-20 - 4	*2.96897	2.17061		
-20 - 25	*4.82929	2.17061		
4 - 25	1.86031	2.17061		

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05

Tabla 80: Análisis de varianza factorial referente al índice de peróxidos del mousse de salmón con pigmentos carotenoides

Fuente	SC	DI	CM	F-Ratio	P-Value
Efectos principales					
A:Temperatura	0.0211	2	0.0105	3.63	0.0344
B:Tiempo	0.1385	5	0.0277	9.54	0.0000
RESIDUAL	0.1336	46	0.0029		
TOTAL (Corregida)	0.2933	53			

SC=Suma de cuadrados, DI= grados de libertad, CM=cuadrado medio, *Nivel de significancia de 0.05

Tabla 81: Prueba Duncan referente al efecto de la temperatura en el índice de peróxidos del mousse de salmón con pigmentos carotenoides

Temperatura	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
-20°C	18	0.0505	0.0127	X
4°C	18	0.0918	0.0127	X
25°C	18	0.0930	0.0127	X
Contraste	Diferencia			
-20 - 4	*-0.0413			
-20 - 25	*-0.0425			
4 - 25	-0.00118			

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05

Tabla 82: Prueba de Tukey referente al efecto del tiempo en el índice de peróxidos del mousse de salmón con pigmentos carotenoides

Tiempo	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
22	9	0.0232	0.0179	X
0	9	0.0260	0.0179	X
18	9	0.0433	0.0179	XX
7	9	0.1019	0.0179	XX
14	9	0.1192	0.0179	X
25	9	0.1568	0.0179	X
Contraste	Diferencia	+/- Límites		
0 - 7	*-0.0758733	0.0755601		
0 - 14	*-0.093179	0.0755601		
0 - 18	-0.0172902	0.0755601		
0 - 22	0.00284664	0.0755601		
0 - 25	*-0.130823	0.0755601		
7 - 14	-0.0173056	0.0755601		
7 - 18	0.0585831	0.0755601		
7 - 22	*0.0787199	0.0755601		
7 - 25	-0.0549492	0.0755601		
14 - 18	*0.0758888	0.0755601		
14 - 22	*0.0960256	0.0755601		
14 - 25	-0.0376436	0.0755601		
18 - 22	0.0201368	0.0755601		
18 - 25	*-0.113532	0.0755601		
22 - 25	*-0.133669	0.0755601		

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05.

Tabla 83: Análisis de varianza factorial referente a la acidez del mousse de salmón con pigmentos carotenoides

Fuente	SC	DI	CM	F-Ratio	P-Value
Efectos principales					
A:Temperatura	0.089	2	0.044	16.55	0.0000
B:Tiempo	0.556	5	0.111	41.04	0.0000
RESIDUAL	0.124	46	0.002		
TOTAL (Corregida)	0.771	53			

SC=Suma de cuadrados, GI= grados de libertad, CM=cuadrado medio, *Nivel de significancia de 0.05

Tabla 84: Prueba de Tukey referente al efecto del tiempo en la acidez del mousse de salmón con pigmentos carotenoides

Tiempo	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
0	9	0.385078	0.0173628	X
7	9	0.490243	0.0173628	X
14	9	0.515221	0.0173628	XX
18	9	0.57152	0.0173628	XX
22	9	0.631096	0.0173628	XX
25	9	0.701136	0.0173628	X
Contraste	Diferencia	+/- Límites		
0 - 7	*-0.105166	0.073009		
0 - 14	*-0.130143	0.073009		
0 - 18	*-0.186442	0.073009		
0 - 22	*-0.246018	0.073009		
0 - 25	*-0.316058	0.073009		
7 - 14	-0.0249775	0.073009		
7 - 18	*-0.0812768	0.073009		
7 - 22	*-0.140853	0.073009		
7 - 25	*-0.210892	0.073009		
14 - 18	-0.0562993	0.073009		
14 - 22	*-0.115875	0.073009		
14 - 25	*-0.185915	0.073009		
18 - 22	-0.0595759	0.073009		
18 - 25	*-0.129615	0.073009		
22 - 25	-0.0700396	0.073009		

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05.

Tabla 85: Prueba Duncan referente al efecto de la temperatura en la acidez del mousse de salmón con pigmentos carotenoides

Temperatura	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
-20 °C	18	0.491	0.0122774	X
4 °C	18	0.570	0.0122774	X
25 °C	18	0.584	0.0122774	X
Contraste	Diferencia	+/- Límites		
-20 - 4	*-0.078	0.0420549		
-20 - 25	*-0.0927	0.0420549		
4 - 25	-0.0141	0.0420549		

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05

ANEXO 15

Análisis estadísticos: Evaluación del color durante el almacenamiento del mousse de salmón con pigmentos carotenoides (Astaxantina)

Tabla 86: Análisis de varianza referente al parámetro L* del mousse de salmón con pigmentos carotenoides

Fuente	SC	GI	CM	F-Ratio	P-Value
Efectos principales					
A: Tiempo	20.30	5	4.06181	14.79	0.0000
B: Temperatura	21.67	2	10.836	39.45	0.0000
RESIDUAL	12.63	46	0.2747		
TOTAL (Corregida)	54.61	53			

SC=Suma de cuadrados, GI= grados de libertad, CM=cuadrado medio, *Nivel de significancia de 0.05

Tabla 87: Prueba de Tukey referente al efecto del tiempo en los valores de L* del mousse de salmón con pigmentos carotenoides

Tiempo	Count	LS Mean	LS Sigma	Grupos homogéneos
0	9	81.9467	0.174707	X
18	9	82.2967	0.174707	XX
7	9	82.6961	0.174707	XX
25	9	83.005	0.174707	XX
22	9	83.2459	0.174707	XX
14	9	83.8152	0.174707	X
Contraste	Diferencia	+/- Límites		
0 - 7	*-0.749367	0.734624		
0 - 14	*-1.8684	0.734624		
0 - 18	-0.3499	0.734624		
0 - 22	*-1.29918	0.734624		
0 - 25	*-1.05828	0.734624		
7 - 14	*-1.11903	0.734624		
7 - 18	0.399467	0.734624		
7 - 22	-0.549817	0.734624		
7 - 25	-0.308911	0.734624		
14 - 18	*1.5185	0.734624		
14 - 22	0.569217	0.734624		
14 - 25	*0.810122	0.734624		
18 - 22	*-0.949283	0.734624		
18 - 25	-0.708378	0.734624		
22 - 25	0.240906	0.734624		

* denotes a statistically significant difference

Tabla 88: Prueba de Tukey referente al efecto de la temperatura en el valor de L* del mousse de salmón con pigmentos carotenoides

Temperatura	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
25°C	18	81.9582	0.123536	X
4°C	18	83.11	0.123536	X
-20°C	18	83.4346	0.123536	X
Contraste		Diferencia		+/- Límites
-20°C - 4°C		0.324575	0.423161	
-20°C - 25°C		*1.47644	0.423161	
4°C - 25°C		*1.15186	0.423161	

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05

Tabla 89: Análisis de varianza referente al parámetro a* del mousse de salmón con pigmentos carotenoides

Fuente	SC	GI	CM	F-Ratio	P-Value
Efectos principales					
A: Tiempo	2.107	5	0.421433	1.55	0.1942
B: Temperatura	11.54	2	5.77315	21.19	0.0000
RESIDUAL	12.53	46	0.272465		
TOTAL (Corregida)	26.18	53			

SC=Suma de cuadrados, GI= grados de libertad, CM=cuadrado medio, *Nivel de significancia de 0.05

Tabla 90: Prueba de Tukey referente al efecto de la temperatura en el valor de a* del mousse de salmón con pigmentos carotenoides

Temperatura	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
4°C	18	6.42487	0.123032	X
-20°C	18	7.03883	0.123032	X
25°C	18	7.55615	0.123032	X
Contraste		Diferencia		+/- Límites
-20°C - 4°C		*-0.517319	0.421435	
-20°C - 25°C		*-1.13129	0.421435	
4°C - 25°C		*0.613967	0.421435	

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05

Tabla 91: Análisis de varianza referente al parámetro b* del mousse de salmón con pigmentos carotenoides

Fuente	SC	GI	CM	F-Ratio	P-Value
Efectos principales					
A:Tiempo	1.92	5	0.385	0.69	0.6349
B:Temperatura	31.24	2	15.623	27.90	0.0000
RESIDUAL	25.75	46	0.559		
TOTAL (Corregida)	58.92	53			

SC=Suma de cuadrados, GI= grados de libertad, CM=cuadrado medio, *Nivel de significancia de 0.05

Tabla 92: Prueba de Tukey referente al efecto de la temperatura en el valor b* del mousse de salmón con pigmentos carotenoides

Temperatura	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
25 °C	18	18.6019	0.176368	X
4 °C	18	19.124	0.176368	X
-20°C °C	18	20.412	0.176368	X
Contraste		Diferencia		+/- Límites
-20°C - 4°C		*-1.28801	0.604131	
-20°C - 25°C		*-1.81003	0.604131	
4°C - 25°C		0.522025	0.604131	

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05

Tabla 93: Análisis de varianza referente al parámetro C* del mousse de salmón con pigmentos carotenoides

Fuente	SC	GI	CM	F-Ratio	P-Value
Efectos principales					
A:Tiempo	3.504	5	0.7009	0.82	0.5451
B:Temperatura	32.12	2	16.0602	18.68	0.0000
RESIDUAL	39.5592	46	0.859983		
TOTAL (Corregida)	75.1845	53			

SC=Suma de cuadrados, GI= grados de libertad, CM=cuadrado medio, *Nivel de significancia de 0.05

Tabla 94: Prueba de Tukey referente al efecto de la temperatura del valor C* del mousse de salmón con pigmentos carotenoides

Temperatura	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
25 °C	18	19.7682	0.218579	X
4 °C	18	20.4173	0.218579	X
-20°C	18	21.6292	0.218579	X
Contraste	Diferencia	+/- Límites		
-20°C - 4°C	*-1.21193	0.748721		
-20°C - 25°C	*-1.86101	0.748721		
4°C - 25°C	0.649078	0.748721		

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05

Tabla 95: Análisis de varianza referente al parámetro h° del mousse de salmón con pigmentos carotenoides

Fuente	SC	GI	CM	F-Ratio	P-Value
Efectos principales					
A:Tiempo	20.4493	5	4.08987	9.52	0.0000
B:Temperatura	32.2952	2	16.1476	37.58	0.0000
RESIDUAL	19.7637	46	0.429645		
TOTAL (Corregida)	72.5082	53			

SC=Suma de cuadrados, GI= grados de libertad, CM=cuadrado medio, *Nivel de significancia de 0.05

Tabla 96: Prueba de Tukey referente al efecto de la temperatura del valor h° del mousse de salmón con pigmentos carotenoides

Temperatura	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
-20 °C	18	69.3344	0.154496	X
4 °C	18	69.7058	0.154496	X
25 °C	18	71.1288	0.154496	X
Contraste	Diferencia	+/- Límites		
-20°C - 4°C	-0.371353	0.529212		
-20°C - 25°C	*1.79435	0.529212		
4°C - 25°C	*-1.423	0.529212		

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05

Tabla 97: Prueba de Tukey referente al efecto de la temperatura del valor h° del mousse de salmón con pigmentos carotenoides

Temperatura	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
25	9	69.0342	0.218491	X
22	9	69.4799	0.218491	XX
18	9	70.1032	0.218491	XX
0	9	70.3966	0.218491	XX
14	9	70.5148	0.218491	X
7	9	70.8093	0.218491	X
Contraste	Diferencia	+/- Límites		
0 - 7	-0.41265	0.918733		
0 - 14	-0.118244	0.918733		
0 - 18	0.293367	0.918733		
0 - 22	0.916717	0.918733		
0 - 25	*1.3624	0.918733		
7 - 14	0.294406	0.918733		
7 - 18	0.706017	0.918733		
7 - 22	*1.32937	0.918733		
7 - 25	*1.77505	0.918733		
14 - 18	0.411611	0.918733		
14 - 22	*1.03496	0.918733		
14 - 25	*1.48064	0.918733		
18 - 22	0.62335	0.918733		
18 - 25	*1.06903	0.918733		
22 - 25	0.445683	0.918733		

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05

ANEXO 16

Análisis estadísticos: Evaluación del color durante el almacenamiento del mousse de salmón con pigmentos carotenoides

Tabla 98: Análisis de varianza referente al parámetro L* del mousse de salmón sin pigmentos carotenoides (Referencia)

Fuente	SC	GI	CM	F-Ratio	P-Value
Efectos principales					
A:Tiempo	4.156	5	0.83138	3.93	0.0048
B:Temperatura	4.418	2	2.20939	10.43	0.0002
RESIDUAL	9.741	46	0.21177		
TOTAL (Corregida)	18.317	53			

SC=Suma de cuadrados, GI= grados de libertad, CM=cuadrado medio, *Nivel de significancia de 0.05

Tabla 99: Prueba de Tukey referente al efecto del tiempo para el valor L* del mousse de salmón sin pigmentos carotenoides (Referencia)

Tiempo	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
25	9	85.5588	0.153396	X
18	9	85.9713	0.153396	XX
7	9	85.9953	0.153396	XX
14	9	86.1242	0.153396	XX
0	9	86.181	0.153396	XX
22	9	86.4845	0.153396	X
Contraste	Diferencia	+/- Límites		
0 - 14	0.0567611	0.645013		
0 - 18	0.209667	0.645013		
0 - 22	-0.30355	0.645013		
0 - 25	0.622156	0.645013		
0 - 7	0.185667	0.645013		
14 - 18	0.152906	0.645013		
14 - 22	-0.360311	0.645013		
14 - 25	0.565394	0.645013		
14 - 7	0.128906	0.645013		
18 - 22	-0.513217	0.645013		
18 - 25	0.412489	0.645013		
18 - 7	-0.024	0.645013		
22 - 25	*0.925706	0.645013		
22 - 7	0.489217	0.645013		
25 - 7	-0.436489	0.645013		

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05.

Tabla 100: Prueba de Tukey referente al efecto de la temperatura del valor L* del mousse de salmón sin pigmentos carotenoides (Referencia)

Temperatura	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
25 °C	18	85.7699	0.108467	X
4 °C	18	85.9432	0.108467	X
-20 °C	18	86.4445	0.108467	X
Contraste	Diferencia	+/- Límites		
-20°C - 4°C	*0.501314	0.371543		
-20°C - 25°C	*-0.674619	0.371543		
4°C - 25°C	-0.173306	0.371543		

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05

Tabla 101: Análisis de varianza referente al parámetro a* del mousse de salmón sin pigmentos carotenoides (Referencia)

Fuente	SC	Gl	CM	F-Ratio	P-Value
Efectos principales					
A:Tiempo	4.345	5	0.8690	19.74	0.0000
B:Temperatura	0.972	2	0.486	11.04	0.0001
RESIDUAL	2.025	46	0.0440		
TOTAL (Corregida)	7.34308	53			

SC=Suma de cuadrados, Gl= grados de libertad, CM=cuadrado medio, *Nivel de significancia de 0.05

Tabla 102: Prueba de Tukey referente al de la temperatura del valor a* del mousse de salmón sin pigmentos carotenoides (Referencia)

Temperatura	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
-20°C	18	2.5067	0.04946	X
4°C	18	2.74896	0.0494613	X
25°C	18	2.82016	0.0494613	X
Contraste	Diferencia	+/- Límites		
-20°C - 4°C	-0.0711944	0.169425		
-20°C - 25°C	*-0.313458	0.169425		
4°C - 25°C	*-0.242264	0.169425		

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05

Tabla 103: Prueba de Tukey referente al efecto de la temperatura del valor a* del mousse de salmón sin pigmentos carotenoides (Referencia)

Temperatura	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
0	9	2.10523	0.0699489	X
7	9	2.65661	0.0699489	X
18	9	2.73667	0.0699489	XX
14	9	2.79723	0.0699489	XX
22	9	2.84775	0.0699489	XX
25	9	3.00813	0.0699489	X
Contraste	Diferencia	+/- Límites		
0 - 14	*-0.692	0.294128		
0 - 18	*-0.631439	0.294128		
0 - 22	*-0.742517	0.294128		
0 - 25	*-0.9029	0.294128		
0 - 7	*-0.551372	0.294128		
14 - 18	0.0605611	0.294128		
14 - 22	-0.0505167	0.294128		
14 - 25	-0.2109	0.294128		
14 - 7	0.140628	0.294128		
18 - 22	-0.111078	0.294128		
18 - 25	-0.271461	0.294128		
18 - 7	0.0800667	0.294128		
22 - 25	0.160383	0.294128		
22 - 7	0.191144	0.294128		
25 - 7	*0.351528	0.294128		

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05

Tabla 104: Análisis de varianza referente al parámetro b* del mousse de salmón sin pigmentos carotenoides (Referencia)

Fuente	SC	GI	CM	F-Ratio	P-Value
Efectos principales					
A:Tiempo	1.521	5	0.30428	1.19	0.3274
B:Temperatura	16.319	2	8.15959	31.99	0.0000
RESIDUAL	11.732	46	0.25504		
TOTAL (Corregida)	29.572	53			

SC=Suma de cuadrados, GI= grados de libertad, CM=cuadrado medio, *Nivel de significancia de 0.05

Tabla 105: Prueba de Tukey referente al efecto de la temperatura del valor b* del mousse de salmón sin pigmentos carotenoides (Referencia)

Temperatura	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
25 °C	18	13.081	0.119034	X
4°C	18	13.441	0.119034	X
-20 °C	18	14.385	0.119034	X
Contraste	Diferencia	+/- Límites		
-20°C – 4°C	*-0.944289	0.407739		
-20°C – 25°C	*-1.30351	0.407739		
4°C – 25°C	-0.359222	0.407739		

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05.

Tabla 106: Análisis de varianza referente al parámetro C* del mousse de salmón sin pigmentos carotenoides (Referencia)

Fuente	SC	GI	CM	F-Ratio	P-Value
Efectos principales					
A:Tiempo	2.256	5	0.451	1.51	0.2067
B:Temperatura	13.040	2	6.520	21.75	0.0000
RESIDUAL	13.790	46	0.299		
TOTAL (Corregida)	29.0872	53			

SC=Suma de cuadrados, GI= grados de libertad, CM=cuadrado medio, *Nivel de significancia de 0.05

Tabla 107: Prueba de Tukey referente al efecto de la temperatura del valor C* del mousse de salmón sin pigmentos carotenoides (Referencia)

Temperatura	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
25 °C	18	13.2872	0.129055	X
4 °C	18	13.5921	0.129055	X
-20 °C	18	14.4481	0.129055	X
Contraste		Diferencia	+/- Límites	
-20°C – 4°C		*-0.855989	0.442064	
-20°C – 25°C		*-1.1609	0.442064	
4°C – 25°C		-0.304911	0.442064	

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05

Tabla 108: Análisis de varianza referente al parámetro h° del mousse de salmón sin pigmentos carotenoides (Referencia)

Fuente	SC	GI	CM	F-Ratio	P-Value
Efectos principales					
A:Tiempo	40.725	5	8.145	34.91	0.0000
B:Temperatura	8.091	2	4.045	17.34	0.0000
RESIDUAL	10.731	46	0.233		
TOTAL (Corregida)	59.548	53			

SC=Suma de cuadrados, GI= grados de libertad, CM=cuadrado medio, *Nivel de significancia de 0.05

Tabla 109: Prueba de Tukey referente al efecto de la temperatura del valor h° del mousse de salmón sin pigmentos carotenoides (Referencia)

Temperatura	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
4 °C	18	78.2496	0.113845	X
-20 °C	18	78.8813	0.113845	X
25°C	18	79.1778	0.113845	X
Contraste		Diferencia	+/- Límites	
-20°C – 4°C		*-0.631717	0.389966	
-20°C – 25°C		0.2965	0.389966	
4°C – 25°C		*0.928217	0.389966	

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05

Tabla 110: Prueba de Tukey referente al efecto de la temperatura del valor h° del mousse de salmón sin pigmentos carotenoides (Referencia)

Temperatura	Count	LS Media	LS Sigma	Grupos homogéneos
25	9	77.5002	0.161002	X
22	9	78.288	0.161002	X
14	9	78.5026	0.161002	X
18	9	78.7634	0.161002	XX
7	9	79.2515	0.161002	X
0	9	80.3118	0.161002	X
Contraste		Diferencia	+/- Límites	
0 - 14		*1.8091	0.676996	
0 - 18		*1.5483	0.676996	
0 - 22		*2.0237	0.676996	
0 - 25		*2.8115	0.676996	
0 - 7		*1.0603	0.676996	
14 - 18		-0.2608	0.676996	
14 - 22		0.2145	0.676996	
14 - 25		*1.0024	0.676996	
14 - 7		*-0.7486	0.676996	
18 - 22		0.4754	0.676996	
18 - 25		*1.2632	0.676996	
18 - 7		-0.4880	0.676996	
22 - 25		*0.7878	0.676996	
22 - 7		*-0.9634	0.676996	
25 - 7		*-1.7512	0.676996	

* Denota diferencia estadísticamente significativa, nivel de significancia de 0.05.

ANEXO 17

Manejo de los residuos generados a lo largo de la experimentación

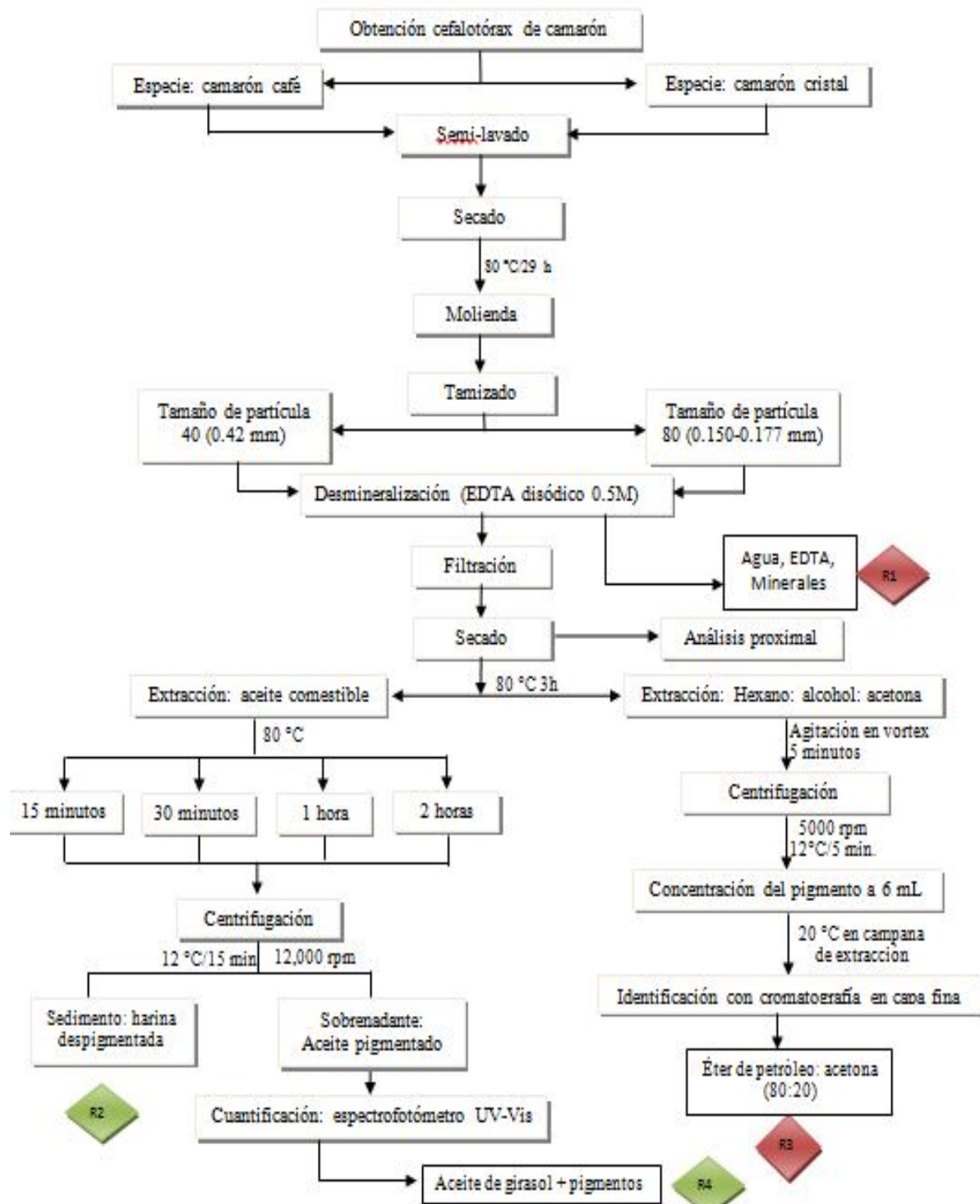


Figura 1. Diagrama de ecológico de residuos generados en la experimentación

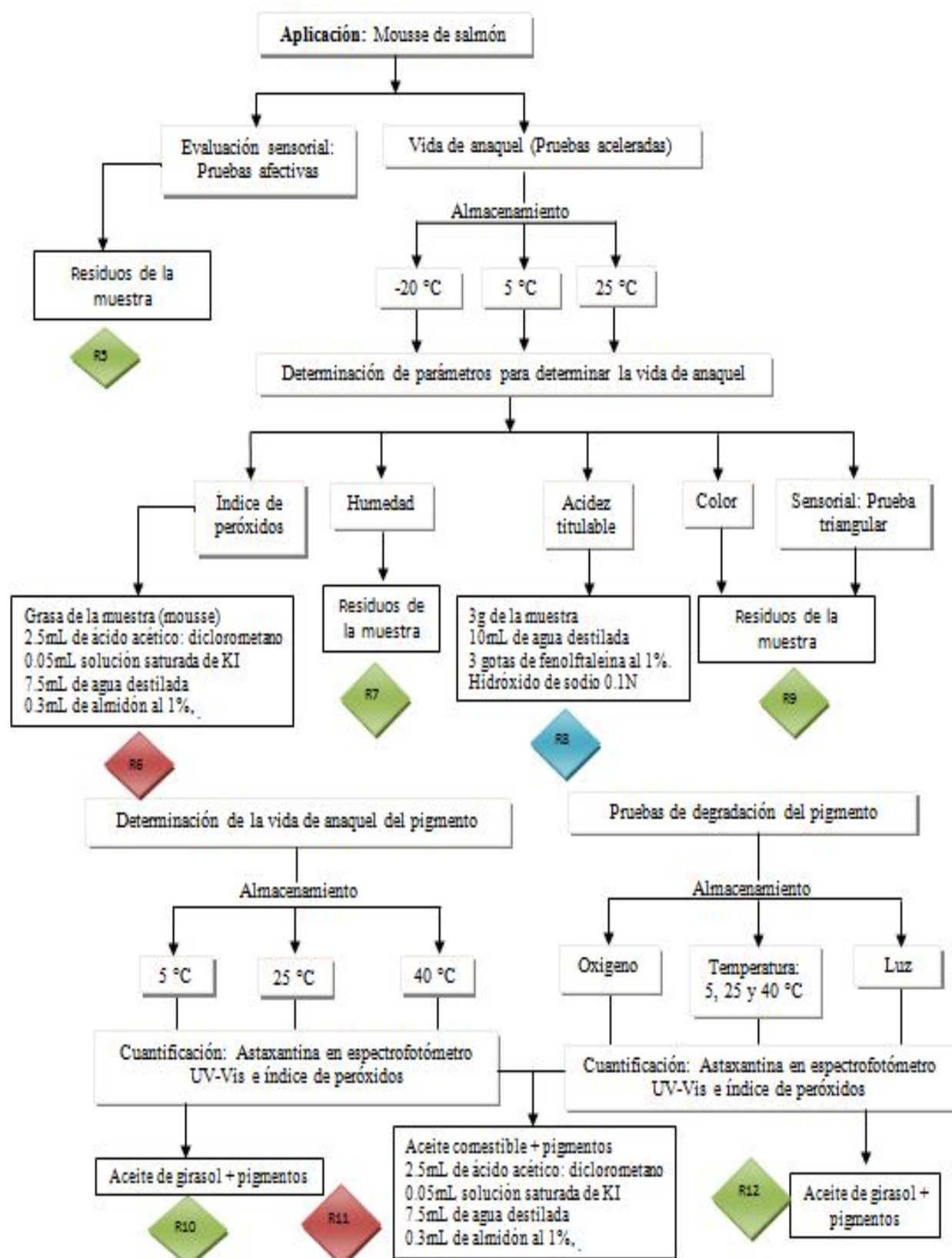


Figura 1. Diagrama de ecológico de residuos generados en la experimentación continuación

Residuos

R1, R3, R6, R11: Se acondicionaron para su envío a través de la colecta de residuos de la UGA (Unidad de Gestión Ambiental de la FQ-UNAM). El acondicionamiento de estos residuos consistió en el envasado de los mismos y el etiquetado en cual se especificó la naturaleza química del compuesto así como el nombre de la persona que lo generó entre otros.

R2, R4, R5, R7, R9, R10, R12: Debido a la naturaleza orgánica estos residuos no presentan peligro de contaminación ambiental de tal manera que fueron desechados en los contenedores de basura orgánica.

R8: Se filtró el residuo para separar la muestra (mousse) de los componentes químicos (NaOH, fenolftaleína), depositándose la muestra en los contenedores de basura, mientras que el filtrado fue neutralizado con HCl.

BIBLIOGRAFÍA

- Abaroa S. 2012. Especial de precios de pescados y mariscos. [En línea] (última actualización 30 de marzo de 2012).
Disponible en:
http://www.profeco.gob.mx/encuesta/brujula/bruj_2011/bol190_mariscos.asp [Último acceso el 25 de mayo de 2012]
- Acatzi I., Aguilar A., Beaz A., García V., González L. y Sánchez A. 2010. Laboratorio de Alimentos II. Material didáctico. Facultad de Química, UNAM. México D.F., México.
- Afshari H. and Farahnaky A. 2011. Evaluation of photoshop software potential for food colorimetry. *Journal of Food Engineering*. 106, 170-175.
- Alarcón N.J. 2011. Obtención de pigmentos a partir de cefalotórax de camarón empleando aceites comestibles. Informe de Estancia Estudiantil. Facultad de Química, UNAM. México D.F., México.
- Alvarado J. y Aguilera J. 2001. Métodos para medir propiedades físicas en industrias de alimentos. Capítulo 4.2: Color. Editorial Acribia. Madrid, España. Pp. 325-347.
- Angelo A. 1992. Lipid Oxidation in food. ACS Symposium series 500. Editorial American Chemical Society. Washington, DC. EEUU. Pp. 1-31.
- Anónimo. 2011. Bloque 4, Espacios económicos y desigualdad social. Santillana, S.A. [En línea] Disponible en: <http://licfcobanos.files.wordpress.com/2011/08/bloque-4-integral.pdf> [Último acceso el 27 de septiembre de 2012].
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis of AOAC international. Arlington, VA.: AOA International. 16, pp. 17-18.
- Artigas J., Capilla P. y Pujol J. 2002. Tecnología del color. Editorial Maite Simon. Valencia, España. Pp. 15-25.
- Baduí S. 1993. Química de los alimentos. Tercera edición. Editorial Pearson Educación. México D.F. México. Pp. 213-273.
- Bello J. 2000. Ciencia bromatológica. Principios generales de los alimentos. Editorial Díaz de Santos. Madrid, España. Pp. 200-203, 295-322.
- Britton, G. 1985. General Carotenoids Methods. *Methods in Enzymology*, 111:115-149
- Cañipa, A, Escobedo, G., García, R., Gálvez, A. y Durán, C. 1998. Producción de pigmentos, quitina y quitosana a partir de residuos de la industria camaronera. Parte

- 1: Separación de pigmentos y quitina y producción de quitosana. *Industria Alimentaria*, 20(6), 28-38.
- Cañipa A. y Durán C. 1997. Reaprovechamiento del cefalotórax de camarón, un proyecto exitoso. *Industria Alimentaria*. 19(3), 10-17.
 - Chang E. 2011. The crustacean endocrine system and pleiotropic chemical messengers. En: T. Breithaupt and M. Thiel eds. *Chemical communication in crustaceans*. Springer. New York, NY. EEUU. Pp. 422-424.
 - Chen H. and Meyers S. 1982. Extraction of astaxanthin pigment from crawfish waste using a soy oil process. *Journal Food Science*. 47, 892-896.
 - CODEX STAN. 2012. Norma general del CODEX para los aditivos alimentarios. Pp. 1-4.
 - Correa N., Silva C., Moraes J., Teixeira N., and Ferreira L. 2012. Characteristics of the extract of *Litopenaeus vannamei* shrimp obtained from the cephalothorax using pressurized CO₂. *Journal of Supercritical Fluids*. 66, 176-180.
 - Cruz A, Gómez G., Ávila A., Rincón M., López B. y Madrazo O. 2007. Técnicas para el análisis microbiológico de alimentos. UNAM. Facultad de Química. México D.F. México. Pp. 33-48, 67-78.
 - Cubero N., Monferrer A. y Villalta J. 2002. *Tecnología de alimentos: Aditivos alimentarios*. Editorial Mundi-Prensa. Madrid, España. Pp. 19-23.
 - Delgado F., Jiménez A. y Paredes O. 2000. Natural pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains- characteristics, biosynthesis, processing, and stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 40 (3), 173-289.
 - DOF. 1979. Normas mexicanas. NMX-F-021-S-1979. Mayonesa. Mayonnaise. Dirección General de Normas. México D.F. De las fuentes internacionales del internet: <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-021-S-1979.PDF>. [Último acceso 3 de septiembre 2013].
 - DOF. 2009. Modificación del inciso 0, el encabezado de la Tabla 13, el último párrafo del Anexo B y el apartado Signo decimal de la Tabla 21 de la Norma Oficial Mexicana NOM-008-SCFI-2002, Sistema general de unidades de medida. Jueves 24 de septiembre de 2009. DIARIO OFICIAL (Primera Sección). Secretaría de Economía. Poder Ejecutivo Federal. México D.F. México.

- DOF. 2010. NOM-243-SSA1-2010, Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba. Dirección General de Normas. México D.F. [línea] Disponible
- Dunne P., Monahan F., O'Mara F. and Moloney A. 2009. Colour of bovine subcutaneous adipose tissue: A review of contributory factors, associations with carcass and meat quality and its potential utility in authentication of dietary history. *Meat science*. 81,28-45.
- Dziuk C. 2011. Tendencias globales en colorantes. *Industria alimenticia*. [En línea] Disponible en: <http://www.industriaalimenticia.com/articles/83014-tendencias-globales-en-colorantes> [Último acceso 16 de noviembre de 2012]
- Edge R., McGarvey D., and Truscott T. 1997. The carotenoids as anti-oxidants a review. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 41 pp. 189-200.
- Einen O. and Thomassen M. 1998. Starvation prior to slaughter in Atlantic salmon (*Salmo solar*) II. White muscle composition and evaluation of freshness, texture and colour characteristics in raw and cooked fillets. *Aquaculture*. 169, 37-53.
- Eriksson C. (1981). Lipid oxidation catalysts and inhibitors in raw materials and processed foods. *Food Chemistry*. 9; 3-19.
- FAO. 2010. Estadísticas de pesca y acuicultura 2010. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Roma, Italia.
- FAO. 2012a. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2012. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Roma, Italia.
- FAO. 2012b. Programa de información de especies acuáticas *Penaeus vannamei*. Departamento de Pesca y Acuicultura. [En línea]. Disponible en: http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Litopenaeus_vannamei/es [Último acceso 21 de noviembre 2012]
- FAO. 2012c. Departamento de Pesca y Acuicultura. Visión general del sector acuícola nacional México. [En línea] Disponible en: http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso_mexico/es [Último acceso el 8 de marzo de 2012].
- Fenneman O. 1993. Química de los alimentos. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España. Pp. 615-648.

- Flores E. 2001. Tesis de Master en Ingeniería Alimentaria: “Alternativas tecnológicas para el procesamiento del camarón blanco (*Litopenaeus schmitti*) cultivado en Cuba”. Facultad de Ingeniería Química. La Habana, Cuba. Pp. 10-18.
- Fun B. and Labuza T. 2013. Shelf life testing: Procedures and prediction methods for frozen foods. Redes internacionales. Página electrónica: http://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&frm=1&source=web&cd=1&ved=0CDEQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.researchgate.net%2Fpublication%2F2402471_Shelf_Life_Testing_Procedures_and_Prediction_Methods_for_Frozen_Foods%2Ffile%2F9fcfd50ca4182953af.pdf&ei=m2poUpr4N5Dq8ASDtYC4Bg&usg=AFQjCNF8mnmqOIASQwMO3-i2K_dcOMaEsA&bvm=bv.55123115,d.eWU
- Fun B. and Labuza T. 1993. Review: Shelf-life prediction: Theory and application. Food Control. 3(4), 125-133.
- García R., Quintero R. y López A. 2004. Biotecnología alimentaria. Editorial LIMUSA Noriega editores. México D.F. México. Pp. 479-493
- García R., Guadarrama P., Cañipa A., Escobedo G., Gálvez A. y Durán C. 1999. Producción de pigmentos, quitina y quitosana a partir de residuos de la industria camaronera. Parte 3: Extracción enzimática de carotenoproteínas. Industria Alimentaria, 21(2), 27-28,30-39,42-43.
- García R. S. 2008. Uso eficiente de la energía para la obtención de pigmentos carotenoides a partir de desechos de la industria camaronera. Documento para realizar el concurso de oposición cerrado en la Facultad de Química de la UNAM. Facultad de Química. México, D.F. México.
- Giménez A., Ares F., and Ares G. 2012. Sensory shelf-life estimation: A review of current methodological approaches. Food Research International. 49, 311-325.
- HunterLab. 2011. Principios básicos de medida y percepción del color. [En línea]. Disponible en: <http://www.slideshare.net/jagabaldon/color-s>. [Último acceso 4 de septiembre 2013]
- Indergard E., Tolstorebrov I., Larsen H., and Eikevik T. 2013. The influence of Long-term storage, temperature and type of packaging material on the quality characteristics of frozen farmed Atlantic salmon (salmon solar). International Journal of Refrigeration. 1-36. ISSN 0140-7007.s doi: 10.1016/j.ijrefrig.2013.05.011.

- Jackson H., Braun C. and Ernst H. 2008. The chemistry of novel xanthophylls carotenoids. *The American Journal of cardiology*. 101 (10A). 51-57.
- Jencks, W. and Buten B. 1964. The denaturation of crustacyanin. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 107, pp. 511-520.
- Kong, F., Oliveira, A., Tang, J., Rasco, B., and Crapo C. 2008. Salt effect on heat-induced physical and chemical changes of salmon fillet (*O. gorbuscha*). *Food Chemistry*, 106, 957-966.
- Laguerre M., Lecomte J., and Villeneuve P. 2007. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. Review. *Progress in Lipid Research*. 46, 244-282.
- Mataix J. y Carazo E. 2005. *Nutrición para educadores*. Segunda edición. Editorial Díaz de Santos. Madrid, España. Pp. 459.
- Meléndez A., Britton G., Vicario I., and Heredia F. 2006. Relationship between the color and the chemical structure of carotenoid pigments. *Food Chemistry* 101, 1145-1150.
- Millán R., Alvarez S., Trees C. y Santamaría E. 2004. Viabilidad de las comunidades del fitoplancton en bahía San Quintín estimada mediante el análisis de pigmentos. *Ciencias Marinas*. 30(01A), 145-153.
- Mozas A. 2012. Traductor universal de color: espacio CIELAB. [en línea] disponible en: <http://disenoypreimpresionmozadr.wordpress.com/2012/03/20/traductor-universal-de-color-espacio-cielab/>. [Último acceso 28 de noviembre 2012].
- Négre, S., Castillo, R., and Segonzac, M. 2000. Carotenoid pigments and trophic behaviour of deep-sea shrimps (Crustacea, Decapoda, Alvinocarididae) from a hydrothermal area of the Mid-Atlantic Ridge. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*. 127, 293-300.
- Niammuy, C., Devahastin, S., Soponronnarit S., and Raghavan, V. 2008. Kinetics of astaxanthin degradation and color changes of dried shrimp during storage. *Journal of Food Engineering*. 87, 591-600.
- en: http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5160755&fecha=27/09/2010. [Último acceso 4 de septiembre 2013].
- North, A. 2002. Why do lobsters turn pink when they are cooked? *Trends in Biotechnology*. 20, 414-415.

- Olea M., López M. y López H. 2012. Aspectos bromatológicos y toxicológicos de colorante y conservantes. Editorial Díaz de Santos. Madrid, España. Pp. 463-466.
- Ott D. 1992. Manual de laboratorio de ciencia de los alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza, España. Pp. 161-179.
- Palacios E. 2007. Descripción histológica de diferentes estadíos larvarios del camarón *Litopenaeus vannamei*. Tesis profesional (Biología) UNAM. Facultad de Ciencias. México D.F. México.
- Pokorny J., Yanishlieva N. y Gordon M. 2001. Antioxidantes de los alimentos. Aplicaciones prácticas. Editorial Acribia. Zaragoza, España. Pp. 7- 56, 97-105.
- Pu J., Bechte P., and Sathivel S. 2010. Extraction of shrimp astaxanthin with flaxseed oil: Effects on lipid oxidation and astaxanthin degradation rates. Biosystems Engineering. 107, 364-371.
- Ragnarsson J. and Labuza P., 1976. Accelerated shelf-life testing for oxidative rancidity in foods-A review. Food Chem. 2, 291-308.
- Revilla A. 1982. Tecnología de la leche: procesamiento y análisis. Segunda edición. Editorial IICA. San José, Costa Rica. Pp. 43-59.
- Robinson C., Samocha T., Fox J., Gandy R., and Mckee X. 2005. The use of inert artificial commercial food sources as replacements of traditional live food items in the culture of larval shrimp, *Farfantepenaeus aztecus*. Aquaculture. 245, 135-147.
- Rodriguez D. 1997. Carotenoids and food preparation: The retention of provitamin A carotenoids in prepared, processed, and stored foods. Univerdidade Estadual de Campinas. Campinas, Brasil. Pp. 1-99.
- Ruiz J., Segura M., Chel L. y Betancur D. 2008. Caducidad de productos alimenticios: implicaciones teóricas y prácticas. Revista de la Facultad de Ingeniería Química (Yucatán, México). 47, 17-24.
- Sachindra N. and Mahendrakar N., 2005. Process optimization for extraction of carotenoids from shrimp waste with vegetable oils. Bioresource Technology. 96, 1195-1200.
- SAGARPA. 2010. Anuario estadístico de acuicultura y pesca 2010. Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca. México D.F., México.

- Sánchez A., Almeida M., Fontoura B., Antonio F. 2011. Proximate composition and extraction of carotenoids and lipids from Brazilian red spotted shrimp waste (*Farfantepenaeus paulensis*). *Journal of Food Engineering*. 102, 87-93.
- Sánchez A., Meireles M., Ferreira A., and Saito E. 2012. Extraction of omega-3 fatty acids and astaxanthin from Brazilian red spotted shrimp waste using supercritical CO₂ + ethanol mixtures. *Journal of Supercritical Fluids*. 61, 71-77.
- Sanz J. y Gallego R. 2001. *Diccionario Akal del color*. Editorial Ediciones Akal. Madrid, España. 247 págs.
- Shewfelt R. 2009. *Introducing food science*. Editorial CRC PRESS Taylor and Francis Group. Londres, Gran Bretaña. Pp. 314-327.
- Silvera E. 2013. ¿Qué misterios esconde la materia? ¿Qué es la luz?. [En línea]. Disponible en: <http://www.eluniverso.org.es/2013/02/que-misterio-esconde-la-materia-que-es-la-luz/>. [Último acceso 4 de mayo 2013].
- Siracusa V. 2012. Food packaging permeability behaviour: A report. *International Journal of Polymer Science*. VOL., 1-11.
- Torres L. 2007. Tesis “Extracción de caroteno-proteínas de cefalotórax de camarón con aceites comestibles”. [En línea] Disponible en: <http://132.248.9.195/pd2008/0625180/Index.html>. [Último acceso 21 de noviembre de 2012]
- Valero A. 2001. *Principios de color y halopintura*. Editorial Club Universitario. Madrid, España. Pp. 22, 65, 90-121.
- Weesie R., Askin D., Jansen F., Groot H., Lugtenburg J., and Britton G. 1995. Protein-chromophore interaction in α -crustacyanin, the major blue carotenoprotein from the carapace of the lobster, *Homarus gammarus*, a study by ¹³C magic angle spinning NMR. *FEBS Letters*. 362, 34-38.
- Yagiz Y., Kristinsson H., Balaban M., Welt B., Raghavan S., and Marshall M. 2010. Correlation between astaxanthin amount and a* value in fresh Atlantic salmon (*Salmo solar*) muscle during different irradiation doses. XXX. 121-127.
- Yang H., Mu X., Luo D., Hu Y., Song H., Liu C., and Luo J. 2012. Sodium taurocholate, a novel effective feed additive for promoting absorption and pigmentation of astaxanthin in blood parrot. [En línea] (actualizado el 17 de abril del 2012).

Disponible en:

<http://www.sciencedirect.com.pbidi.unam.mx:8080/science/article/pii/S0044848612002256> [Último acceso el 19 abril de 2012].

- You K., Yang H., Liu Y., Liu S., Zhou Y., and Zhang T. 2006. Effects of different light sources and illumination methods on growth and body color of shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*. 252, 557-565.
- Zelanski P., Patisher M. y Fisher M. 2001. El color. Editorial Akal. Madrid, España. Pp. 13-18, 14-22.
- Zúñiga R. and Aguilera J., 2008. Aerated food gels: fabrication and potential applications: A review. *Trends in Food Science y Technology*. 19, 176-187.