

27  
20



**UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
"CUAUTITLAN"**



**OPTIMIZACION DE LA EXTRACCION DE  
PIGMENTO DE ORIGEN NATURAL  
PROVENIENTE DE LAS CABEZAS  
DE CAMARON**

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
INGENIERA EN ALIMENTOS  
P R E S E N T A :  
PATRICIA SILVIA RIVERA SANCHEZ

**ASESORES**

**DRA. SARA ESTHER VALDES MARTINEZ  
M. EN C. ENRIQUE RAMON ANGELES ANGUIANO**

**CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.**

**1995**

**FALLA DE ORIGEN**



## **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 está 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  
AVENIDA DE  
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN  
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR U. N. A. M.  
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



Departamento de  
Exámenes Profesionales

DR. JAIME KELLER TORRES  
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN  
P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, por  
permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:

Optimización de la extracción de pigmento de origen natural  
proveniente de las cabezas de camarón.

que presenta la pasante: Patricia Silvia Rivera Sánchez,  
con número de cedula: 8857453-0 para obtener el TITULO de  
Ingeniera en Alimentos

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para  
ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos  
nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 9 de Mayo de 1975

PRESIDENTE I.B.Q. Rosa M. Arriaga Orihuela

VOCAL Dra. Sara E. Valdés Martínez

SECRETARIO M. en C. J. Guillermo Ponieros Carrillo

PRIMER SUPLENTE Q.F.B. Elia Granados Enriquez

SEGUNDO SUPLENTE Q. José Luis Aguilera Fuentes

## **AGRADECIMIENTOS.**

**GRACIAS a Dios que permitió que realizáramos este trabajo.**

**GRACIAS mamita por TODO, por apoyarme y quererme tanto.**

**GRACIAS papá por su orientación y ayuda.**

**GRACIAS hermanos por estar conmigo.**

**GRACIAS Tizoc, por ser mi esposo, amigo e impulsor para continuar con esta meta que ahora alcanzamos juntos.**

**GRACIAS Rosa Aurora por formar parte de los anhelos cumplidos de mi existencia.**

**GRACIAS Sra. Aurora, Cuahutémoc, Xóchilt y Don Rubén (Q.e.p.d.) por apoyarme para terminar este trabajo**

***GRACIAS al Maestro Enrique Angeles por la invaluable disposición que siempre tuvo y todos los conocimientos que me transmitió.***

***GRACIAS a todos mis compañeros del Laboratorio de la Sección de Química Orgánica, y en especial a Ignacio, Alberto, Enrique, Micaela y Verónica por haberme ayudado incondicionalmente.***

***GRACIAS a la Doctora Sara Valdés y a Laura Vilorio por las tantas veces que me dirigieron y orientaron., y a los compañeros del laboratorio de Tecnología de Alimentos.***

**DEDICATORIA.**

**A TIZOC Y ROSA AURORA, LA NUEVA FAMILIA  
QUE RECIÉN HEMOS FORMADO, PARA QUE ESTO  
SEA UNO MÁS DE LOS SÓLIDOS CIMIENTOS QUE  
YA TENEMOS,**

**A LOS ESTUDIANTES, PARA QUE TENGAN ÁNIMO  
DE SUPERARSE Y SEGUIR ADELANTE A PESAR DE  
LOS OBSTÁCULOS QUE SE PRESENTAN, PARA  
QUE SE DEN CUENTA DE QUE SÍ ES POSIBLE  
ALCANZAR LA META.**

**Optimización de la extracción de pigmento de origen natural  
proveniente de las cabezas de camarón.**

**INDICE:**

<b>Introducción.</b>	<b>1</b>
<b>Capítulo 1.- GENERALIDADES.</b>	
<b>1.1 ASPECTOS IMPORTANTES DE LOS CAROTENOIDES.</b>	
1.1.1 Abundancia en la naturaleza.	3
1.1.2 Clasificación.	3
1.1.3 Obtención.	6
1.1.4 Propiedades Químicas.	7
a) Solubilidad.	8
b) Coloraciones desarrolladas frente a ciertos compuestos.	10
c) Efecto del oxígeno.	11
d) Puntos de fusión.	11
e) Efecto del pH.	11
1.1.5 Propiedades físicas.	
a) Forma de los cristales.	12
b) Propiedades espectrales.	12
c) Actividad óptica	15
d) Potencia tintorial relativa de carotenoides.	15
1.1.6 Propiedades Fisiológicas.	16
1.1.7 Legislación	16
1.1.8 Aplicaciones en alimentos.	18
1.1.9 Carotenoides obtenidos de crustáceos.	18
<b>1.2 ASPECTOS IMPORTANTES DEL CAMARÓN.</b>	
1.2.1 Especies existentes.	19
1.2.2 Aspectos de comercialización.	20
1.2.3 Clasificación taxonómica	21
1.2.4 Descripción biológica.	22

1.2.5 Efecto de la radiación gamma..	22
<b>1.3 MEDIDA DEL COLOR.</b>	
1.3.1 Características colorimétricas.	23
a) Unidades de color.	23
b) Matiz, Intensidad y Brillantez.	24
<b>1.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.</b>	
1.4.1 Experimento Factorial.	29
a) Descripción.	29
b) Ventajas.	29
c) Ejemplo.	30
d) Procedimiento.	31
1.4.2 Ingeniería de calidad	
a) Descripción y ventajas..	34
b) Procedimiento.	35
<b>Capítulo 2.- DISEÑO EXPERIMENTAL</b>	
<b>2.1 OBJETIVOS:</b>	
2.1.1 Objetivo general.	39
2.1.2 Objetivos particulares.	39
<b>2.2 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL:</b>	
2.2.1 Cuadro metodológico.	40
2.2.2 Métodos de Extracción.	41
2.2.3 Rendimiento.	42
2.2.4 Propiedades.	
a) Análisis en la región del espectro visible.	42
b) Unidades de color.	43
c) Brillantez, intensidad y matiz.	44
2.2.5 Implementación del método extractivo con el disolvente seleccionado.	45
- Ingeniería de Calidad.	45



### **Capítulo 3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.**

#### **3.1 EXPERIMENTOS DE OBSERVACIÓN PREVIA.**

a) Extracción.	.....	49
b) Cromatografía.	.....	50
c) Rendimiento. (Experimento Factorial 1)	.....	51
d) Unidades de Color.		
(Experimento Factorial 2)	.....	53

#### **3.2 DISEÑO EXPERIMENTAL DE INGENIERÍA DE CALIDAD**

3.2.1 Unidades de Color.	.....	57
a) Comportamiento de Unidades de Color para cada ensayo.		
b) Influencia de los factores independientes en las Unidades de Color.		
c) Influencia de las interacciones en las Unidades de Color.		
3.2.2 Matiz.	.....	59
a) Comportamiento del Matiz para cada ensayo.		
b) Influencia de los factores independientes en el Matiz..		
c) Influencia de las interacciones en el Matiz		
3.2.3 Intensidad.	.....	61
a) Comportamiento de Intensidad para cada ensayo.		
b) Influencia de los factores independientes en la intensidad		
c) Influencia de las interacciones en la intensidad.		
3.2.4 Brillantez.	.....	63
a) Comportamiento de Brillantez para cada ensayo.		
b) Influencia de los factores independientes en la Brillantez.		
c) Influencia de las interacciones en la Brillantez.		
3.2.5 Influencia del Antioxidante en las Características Colorimétricas.	.....	65
3.3 Espectrometría de masas.	.....	66

#### **Capítulo 4.- CONCLUSIONES.**

<b>4.1 Extracción..</b>	<b>.....68</b>
<b>4.2 Estabilidad.</b>	<b>.....68</b>
<b>4.3 Espectroscopía.</b>	<b>.....69</b>
<b>Referencias Bibliográficas.</b>	<b>.....73</b>

#### **ÍNDICE DE TABLAS, FIGURAS Y GRÁFICAS.**

##### **TABLAS**

<b>1.- Carotenoides presentes en la naturaleza.</b>	<b>..... 5</b>
<b>2.- Procedencia de algunos carotenoides.</b>	<b>..... 6</b>
<b>3.- Aspectos del comportamiento químico de algunos carotenoides . .</b>	<b>7</b>
<b>4.- Solubilidad que presentan los carotenoides en varios disolventes .</b>	<b>8</b>
<b>5.- Solubilidad de carotenoides sintéticos.</b>	<b>..... 9</b>
<b>6.- Cambios de color en carotenoides en presencia de compuestos químicos.</b>	<b>.....10</b>
<b>7.- Puntos de fusión que presentan algunos carotenoides.....</b>	<b>11</b>
<b>8.- Cristales formados por carotenoides.</b>	<b>.....12</b>
<b>9.- Longitudes de onda de varios carotenoides.</b>	<b>.....14</b>
<b>10.- Valores de potencia tintorial relativa al <math>\beta</math>-caroteno que presentan algunos carotenoides.</b>	<b>.....15</b>
<b>11.- Actividad provitáminica A de algunos carotenoides.....</b>	<b>16</b>
<b>12.- Cantidades de carotenoides utilizados en algunos alimentos. . .</b>	<b>17</b>
<b>13.- Especies de camarón capturadas en México. ....</b>	<b>20</b>
<b>14.- Composición química del camarón.</b>	<b>.....21</b>
<b>15.- Nombre científico del camarón.</b>	<b>.....21</b>
<b>16.- Efecto de la radiación gamma en Astaxantina presente en camarones.</b>	<b>.....23</b>
<b>17.- Ejemplo de ordenamiento de datos para una experimento factorial.</b>	<b>.....30</b>

<b>18.- Análisis de variancia para un experimento completamente aleatorizado de dos factores (Modelo de efectos fijos).</b>	<b>33</b>
<b>19.- Rendimientos ( % ) y Unidades de Color obtenidos con los diferentes tipos de camarón.</b>	<b>49</b>
<b>20.- Rendimientos (%) obtenidos con los diferentes disolventes utilizados para cada uno de los tiempos de extracción propuestos.</b>	<b>51</b>
<b>21.- Unidades de color (U.C.) de los pigmentos obtenidos con los diferentes disolventes utilizados para cada uno de los tiempos de extracción propuestos.</b>	<b>53</b>
<b>22.- Resultados de Características Colorimétricas Para los ensayos propuestos en el diseño de Ingeniería de Calidad.</b>	<b>55</b>
<b>23.- Datos requeridos para obtener las gráficas de Tiempo Vs. % de Influencia en cada una de las Características colorimétricas.</b>	<b>56</b>
<b>FIGURAS.</b>	
<b>1.- Estructuras químicas de algunos carotenoides</b>	<b>4</b>
<b>2.- Valores de triestímulos, cantidades de los primarios C.I.I. necesarias para igualar la energía unidad en las longitudes de onda visibles.</b>	<b>25</b>
<b>3.- Diagrama de cromaticidad para el observador normal C.I.I. y el iluminante C.</b>	<b>27</b>
<b>4.- Fragmentos característicos de <math>\beta</math> - carotenos.</b>	<b>67</b>
<b>5.- Fragmentación de Cantaxantina.</b>	<b>67</b>
<b>6.- Espectro de masas para el pigmento.</b>	<b>70</b>
<b>7.- Resonancia Magnética Nuclear Protónica (RMNP) del pigmento..</b>	<b>71</b>
<b>8.- Resonancia Magnética Nuclear Protónica (RMNP) para el colesterol.</b>	<b>72</b>

9.- Estructura química del $\beta$ - Apo 8' Carotenal. ....	69
---	----

**GRÁFICAS.**

1.- Comportamiento de Unidades de Color para cada ensayo. ....	57
2.- Influencia de los factores independientes en las Unidades de Color. ....	58
3.- Influencia de las interacciones en las Unidades de Color . ....	58
4.- Comportamiento del Matiz para cada ensayo. ....	59
5.- Influencia de los factores independientes en el Matiz. ....	60
6.- Influencia de las interacciones en el Matiz . ....	60
7.- Comportamiento de Intensidad para cada ensayo. ....	61
8.- Influencia de los factores independientes en la intensidad. ....	62
9.- Influencia de las interacciones en la intensidad. ....	62
10.- Comportamiento de Brillantez para cada ensayo. ....	63
11.- Influencia de los factores independientes en la Brillantez . ....	64
12.- Influencia de las interacciones en la Brillantez . ....	64
13.- Influencia del Antioxidante en las Características Colorimétricas . ....	65

## **INTRODUCCIÓN.**

En la industrialización del camarón se desechan las cabezas; se han encontrado algunas referencias de estudios dedicados al aprovechamiento de subproductos de camarón orientados a la obtención de fertilizantes<sup>24</sup>, de quitosan a partir de quitina<sup>46,56,64,74</sup>, de harina de pescado<sup>23</sup> y de pigmento<sup>13,15,24,58,80</sup>. El camarón constituye el 86% de los crustáceos capturados en México, justificando así el aprovechamiento de tales desechos<sup>30,42,60</sup>. El tiempo resulta ser crítico durante el proceso y comercialización del camarón debido a que las enzimas autolíticas y bacterianas empiezan a descomponer sus constituyentes, presentándose el primer cambio entre el cuarto y el quinto día de almacenamiento, el segundo cambio entre el décimo y onceavo día, el tercer cambio y principal se verifica entre el doceavo y quinceavo día de almacenamiento<sup>15,22</sup>. En el muelle donde se realiza la separación del resto de las especies marinas, cuando el camarón es capturado en alta mar, se lava y se mezcla con hielo para mantener la calidad durante el transporte<sup>11,23</sup>. Debe señalarse el efecto favorable de un descabezado previo eliminando el cefalotórax (antes de que ocurra el segundo cambio), parte muy irrigada por la sangre, y por consecuencia sensible a la melanosis, desacelerando de este modo la descomposición<sup>11,59,67</sup> debida principalmente a bacterias de los géneros *Flavobacter*, *Achromobacter*, *Bacillus* y *Micrococcus*<sup>2,15,23</sup>.

Por otro lado, uno de los problemas frecuentes en la industria alimentaria y farmacéutica, es sin duda el encontrar fuentes naturales de pigmentos, debido a la fuerte restricción que existe por el uso de colorantes artificiales<sup>12,32,57,81</sup>. Estudios previos realizados por Estrada y Valdés, muestran que la extracción del pigmento contenido en las cabezas de camarón *Penaeus duorarum* es un subproducto recuperable, y por lo tanto le dará un mayor valor agregado al mismo. Ortiz y cols. obtienen astaxantina de esta misma fuente para utilizar en

dietas de salmónidos de cultivo en el Estado de México<sup>60</sup>. Por otro lado, estudios sobre el dermatoesqueleto del cangrejo de nieve *Chionecetes opilio* muestran que ha sido empleado para obtener astaxantina y proteína<sup>51</sup>.

Tomando en cuenta todo lo anterior se consideró de importancia evaluar al pigmento de origen natural proveniente de las cabezas de camarón utilizable en la industria alimentaria y determinar el comportamiento de las características colorimétricas tales como Unidades de Color, Matiz, Intensidad y Brillantez frente a los factores uso de antioxidante, presencia de luz y temperatura de almacenamiento.

## **CAPITULO 1.- GENERALIDADES.**

### **1.1.- ASPECTOS IMPORTANTES DE LOS CAROTENOIDES.**

#### **1.1.1 Abundancia en la naturaleza.**

Los carotenoides sólo pueden ser sintetizados por las plantas, llegando a los tejidos animales a través de los alimentos, donde pueden ser modificados o acumulados<sup>8,15,16,41</sup>; tal es el caso de los peces y otros animales acuáticos, que tienden a acumular preferentemente, pigmentos xantofilas<sup>3,16,19</sup>.

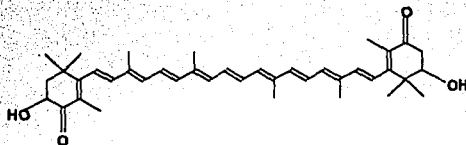
En los tejidos de las plantas se encuentran libres en forma de cristales, como sólidos amorfos o en solución en medio lipídico. También se presentan como ésteres o combinados con azúcares y proteínas. Desde hace tiempo se conoce la existencia de carotenoides en forma de ésteres de ácidos grasos<sup>25,33</sup>.

Son un grupo importante de compuestos solubles en lípidos, la mayoría de ellos responsables de los colores amarillos, naranjas y rojos de las plantas y animales<sup>41,47</sup>. Se hallan muy difundidos y se presentan en grandes cantidades, estimándose que la naturaleza produce anualmente unos 100 millones de toneladas de carotenoides<sup>8,29,33,39</sup>.

#### **1.1.2 Clasificación.**

Comprenden una clase de hidrocarburos poliénicos formados hasta por ocho unidades isoprenoideas (tetraterpenos) unidas de tal modo que la disposición de éstas se halla invertida en el centro de la molécula; la presencia de muchas de estas ligaduras conjugadas explica el color que muestran los carotenoides<sup>16,47</sup>.

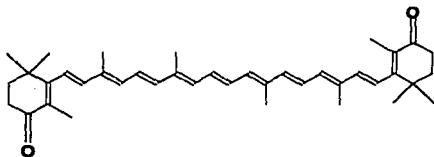
Poseen grupos terminales oxihidrilo con la misma estructura central ( cadenas de unidades isoprenicas ). Se conocen unos sesenta grupos terminales distintos, que abarcan unos trescientos carotenoides conocidos; pueden ser carotenos, o sus derivados oxigenados conocidos como xantófilas<sup>8,16,29,41,57</sup>.



ASTAXANTINA

FIG. 1.- Estructuras químicas de algunos carotenoides.

Encontrado por Manu ( 1987 ) en su estudio sobre el dermatoesqueleto del cangrejo de nieve *Chionocetes opilio* donde se muestra que ha sido empleado para obtener astaxantina y proteína<sup>51</sup>. También Ortiz y cols, obtienen astaxantina pero procedente de camarón<sup>60</sup>.



CANTAXANTINA

Sin embargo en los trabajos realizados por Estrada y Valdés, muestran que en la extracción del pigmento contenido en las cabezas de camarón *Penaeus duorarum* no está presente dicho pigmento.



En la siguiente tabla se mencionan algunos carotenoides presentes en la naturaleza.

**TABLA 1.- Carotenoides presentes en la naturaleza<sup>25</sup>.**

Carotenoide	ejemplo	tipo	se encuentra
Carotenos	hidrolicopeno $\beta$ - caroteno	acíclicos alíciclicos	zanahoria, tomate plantas superiores, bacterias hongos y algas
Xantófilas	Cantaxantina Astaxantina	acíclicas alíciclicas	plantas superiores crustáceos e invertebrados marinos
Degradados	$\beta$ - carotenona Apo-6'licopenal	Seco  Apo	de oxidación de $\beta$ - caroteno tomate
Cetonas	capsantina diatoxantina	ciclopentil oacetilénic o	en algas y animales marinos
Epóxidos	6,6 epóxidos de zeaxantina		plantas superiores y algas
Aromáticos	Renierateno, clorobacieno		en esponjas y especies de mycobactertium

Ref. Enriquez, Hernández E.

### 1.1.3 Obtención.

Los carotenoides pueden ser extraídos por maceración de las muestras, desnaturalización de proteína y extracción con disolventes orgánicos<sup>13</sup>.

Se acostumbra realizar la extracción de los carotenoides con solventes lipídicos, como el hexano o el éter de petróleo, en frío y en ausencia de luz fuerte; también se extraen con éter de petróleo, éter etílico o benceno; en el caso específico de xantófilas se han recomendado también el alcohol y la acetona<sup>8</sup>.

Las fuentes de obtención de algunos de los carotenoides más conocidos, se mencionan a continuación<sup>58</sup>:

Carotenoide	fuentes de obtención	comentario
$\beta$ - caroteno	Plantas verdes, leche humana, salmón, zanahoria	Provitamina A
$\beta$ -Apo 8' carotenal	Naranja y tangerina	Este aldehído se obtiene por vía sintética o por oxidación del $\beta$ -caroteno
Crocetina	Azafrán	es un glucósido
Criptoxantina	Naranja, papaya, yema de huevo, maíz	
Bixina	En las plantas <i>Bixa orellana</i>	también llamado achiote

Ref. Nájera, Gómez A.

Los carotenoides sintéticos se encuentran en dos tipos: aceites y soluciones dispersables en agua, aunque también existen los cristales puros, pero son raramente usados debido a que presentan poca estabilidad y solubilidad<sup>13</sup>.

#### 1.1.4 Propiedades químicas.

La mayoría de los compuestos carotenoides existentes en la naturaleza son compuestos *todo trans*<sup>8,39,41</sup>. La degradación se acelera por radicales libres formados en la oxidación lipídica. Son sensibles a oxígeno y luz. En ausencia de estos, los carotenoides en los alimentos son relativamente resistentes al calor y pH extremos; sin embargo estos agentes pueden provocar una transformación parcial cis-trans de dobles enlaces, modificando el color o valor nutritivo<sup>8,19</sup>. La sensibilidad de carotenoides a la luz depende de la presencia de oxígeno, la luz actúa tan solo como catalizador<sup>26,38,39</sup>.

Algunos de los cambios químicos que presentan los carotenoides son:

**TABLA 3.- Aspectos del comportamiento químico de algunos carotenoides.**

Carotenoide	Algunas características de los cambios químicos
$\beta$ -caroteno	Da un color amarillo-naranja con una gran fuerza de tinte. En completa ausencia de aire, a luz ejerce muy poco efecto en él. No es afectado por agentes reductores tales como el ácido ascórbico <sup>14,27,39</sup>
$\beta$ Apo 8' carotenal	Su uso requiere dilución y tiene una fuerza de tinte alta. No se ve afectado por variaciones de pH, ( en intervalo de 2 a 7 ofrece buena estabilidad ), sales metálicas, exposición a metales o por condiciones reductoras. Lo afecta la oxidación cuando es catalizada por luz y calor, Efecto que puede ser minimizado o eliminado excluyendo el aire <sup>13,14,27,39</sup>
Cantaxantina	Es químicamente estable en el intervalo de pH normalmente encontrado en los alimentos ( 2 a 7 ). Es estable al calor en sistemas con un mínimo de oxígeno <sup>14,27,39</sup>

Refs. Borenstein, Espinoza y Hall

### a) Solubilidad.

Los carotenoides son solubles en los disolventes no polares y en las grasas e insolubles en el agua. Por esta razón se les llama lipocromos<sup>16,41,58</sup>.

**TABLA 4.- Solubilidad que presentan los carotenoides en varios disolventes.**

Carotenoide	soluble en	insoluble en
<b>β-caroteno</b>	Muy soluble en disulfuro de carbono, benceno y cloroformo, como también en éter etílico, acetona y éter de petróleo.	metanol, etanol y en agua
<b>β Apo β' carotenal</b>	cloroformo	agua, poco soluble en alcohol y aceites vegetales
<b>Cantaxantina</b>	cloroformo y aceites	
<b>Crocetina</b>	soluciones orgánicas, piridina y muy soluble en álcalis diluidos; la crocina es soluble en agua.	
<b>Criptoxantina</b>	cloroformo benceno y piridina	poca en éter de petróleo metanol y etanol
<b>Bixina</b>	disolventes orgánicos, aceites y grasa	agua, poco en etanol
<b>Norbixina</b>	alcoholes y soluciones básicas	al contrario de bixina, éste tiene solubilidad en grasas más débil
<b>Licopeno</b>	cloroformoy benceno	metanol y etanol
<b>Capsantina</b>	acetona, cloroformo, metanol, éter de petróleo y benceno	
<b>Flavoxantina</b>	cloroformo, benceno y acetona	

Refs, Braverman, Hui, Less y Nájera.

**TABLA 5.- Solubilidad de carotenoides sintéticos<sup>13,14</sup>.**

	Peso a 24° C.		
	$\beta$ -caroteno	$\beta$ -Apo-8'carotenal	Criptoxantina
<b>Aceites vegetales</b>	<b>0.08</b>	<b>0.7-1.5</b>	<b>0.02</b>
<b>Aceite de naranja</b>	<b>0.5-1</b>	<b>1.8</b>	<b>2</b>
<b>Etanol</b>	<b>trazas</b>	<b>0.15</b>	<b>insoluble</b>
<b>Propilen glicol</b>	<b>insoluble</b>	<b>trazas</b>	<b>trazas</b>
<b>Cloroformo</b>	<b>3-5</b>	<b>16</b>	<b>10</b>
<b>Benceno</b>	<b>2</b>	<b>12</b>	<b>0.2</b>
<b>Acetona</b>	<b>0.1</b>	<b>1.8</b>	<b>0.03</b>

Ref. Borenstain, B.

**b) Coloraciones desarrolladas (por los productos purificados) frente a ciertos compuestos químicos<sup>58</sup>**

**TABLA 6.- Cambios de color en carotenoides en presencia de compuestos químicos.**

Carotenoide	Cambios de coloración presentados
β-caroteno	El β-caroteno disuelto en cloroformo y adicionando ácido sulfúrico a dicha solución, da una coloración azul. Si a la solución de caroteno se le agrega ácido nítrico fumante en lugar de ácido sulfúrico, se obtiene una coloración azul, que se modificará con el tiempo a verde, y además llegará a transformarse hasta una coloración amarillo clara. Con tricloruro de antimonio da una coloración azul oscura. Con ácido clorhídrico, éter o metanol no se afecta ninguna coloración.
β-Apo-8' carotenal.	Proporciona una coloración naranja, de una tonalidad mayor a la que proporciona el β-caroteno. Con ácido clorhídrico y solución éterea, el pigmento se vuelve más estable, transformándose la coloración a azul.
Crocetina.	En ácido sulfúrico concentrado presenta una coloración azul que llega a modificarse con el tiempo a violeta y después a café. No forma coloración con el ácido clorhídrico.
Criptoxantina.	Con tricloruro de antimonio/cloroformo da una coloración azul oscura.
Bixina.	En aceites da una coloración café-amarilla. En álcalis se disuelve dando un color café-rojizo, obteniéndose de esta forma la norbixina.

**c) Efecto del oxígeno.**

Debido a la naturaleza altamente insaturada de los carotenoides, estos tienen tendencia a oxidarse rápidamente, particularmente en las dobles ligaduras, y a medida que se saturan éstas y finalmente se rompen, el color característico de los carotenoides va desapareciendo. Son pigmentos mucho más estables frente a la oxidación en su forma natural que en los sistemas puros<sup>16,58</sup>.

**d) Punto de fusión de compuestos cristalinos<sup>13,14,21,25,39</sup>.**

Conforme va en aumento el peso molecular y por tanto la cantidad de grupos funcionales, estos puntos de fusión se van incrementando.

**TABLA 7.- Puntos de fusión que presentan algunos carotenoides.**

Carotenoide	Punto de fusión
$\beta$ - caroteno	176-182° C.
$\beta$ - Apo 8' carotenal	136-140° C.
Éster etílico del ácido $\beta$ - Apo 8' carotenóico	134-138° C.
Cantaxantina	208-210° C.
Flavoxantina	184° C.
Luteína	190° C.
Criptoxantina	160° C.
Licopeno	172-173° C.
Capsantina	181° C.

Refs. Borenstein, Considine, Enriquez y Hall.

**e) Efecto del pH<sup>13</sup>:** los carotenoides agregados a alimentos no son sensitivos al intervalo de pH de 2 a 7 excepto por los que tienen un grupo carboxílico tal como bixina presentando cambios en el color y la solubilidad.

### 1.1.5 Propiedades físicas.

#### a) Forma de los cristales<sup>13,58</sup>:

La capacidad de los compuestos de formar cristales en presencia de sustancias químicas específicas es también característica de carotenoides, y en la identificación de los mismos puede ser de utilidad el conocer el tipo y forma de ellos.

**TABLA 8.- Cristales formados por carotenoides.**

Carotenoide	Forma de los cristales
$\beta$ -caroteno <sup>21,49</sup> .	Hexagonales (prismas)/benceno y metanol, de coloración violeta oscuros. Rómbicos o en forma cuadrática plana/éter de petróleo, de coloración rojiza.
$\beta$ -Apo-8' carotena <sup>20</sup> .	Cristales color violeta, que imparten coloración de naranja brillante a rojo en soluciones oleosas
Crocetina.	El pigmento es obtenido con anhídrido acético en forma de rombos color rojizo.
Criptoxantina	Presentan formas de prismas al ser extraídos con una mezcla de benceno-metanol.

Refs. Borenstein, Nájera.

#### b) Propiedades espectrales<sup>16</sup>.

Se consideran de importancia los siguientes aspectos:

- 1.- El espectro de los carotenoides tiene tres máximos cuyas longitudes de onda dependen del número de dobles enlaces conjugados.
- 2.- En el caso de los carotenoides que no poseen una estructura completamente plana, la estructura fina no se distingue bien, como pasa con compuestos acíclicos.



- 3.- Los grupos metilo del anillo y de la cadena poliénica presentan efectos estéricos que impiden el solapamiento completo de los orbitales pi, con lo cual también se observa un desplazamiento hipsocrómico de la absorción de la luz.
- 4.- Los grupos oxo en unión con el sistema polieno producen un desplazamiento batocrómico de la absorción de la luz y resaltan la estructura fina.
- 5.- Los grupos hidroxilo carecen de efecto.
- 6.- Si se cambia de disolvente se modifica la posición de los máximos del espectro. Por ejemplo el paso de Hexano a etanol conduce a un desplazamiento batocromo<sup>10</sup>.
- 7.- La gran mayoría de los compuestos carotenoides existentes en la naturaleza son compuestos *todo trans*. Si se crea una configuración, entonces se desplaza un poco el máximo y aparece una banda secundaria (banda cis) de menor longitud de onda.

**TABLA 9.- Longitudes de onda de varios carotenoides.**

Refs. Blasted, Borenstein, Considine, Enriquez, Multon y Nájera.

Carotenoide	Disolvente	Máxima absorción (nm)
β-caroteno	ciclohexano	- 455 -
	disulfuro de carbono	530 485 454
	cloroformo	497 466 -
	hexano	477 450 425
β-Apo-8' carotenal	ciclohexano	- 460 462
	disulfuro de carbono	525 490 -
	éter de petróleo	484 454 -
	etanol	498 447 -
Crocetina	disulfuro de carbono	482 453 426
	piridina	464 436 411
	cloroformo	463 434.5 --
	hexano	445 420 400
Criptoxantina	disulfuro de carbono	519 483 452
	cloroformo	497 463 433
	etanol	486 452 424
	hexano	484 451 423
	ciclohexano	- 468 472
Bixina	disulfuro de carbono	527.5 492 457
	cloroformo	509 474.5 444
Licopeno	éter de petróleo	472 474 506
Capsantina	cloroformo	483
Cantaxantina	cloroformo	464 467

**c) Actividad óptica.**

Una sustancia ópticamente activa es la que rota el plano de la luz polarizada.

Los carotenos que no son simétricos presentan actividad óptica y por ejemplo el  $\beta$ -caroteno presenta una forma simétrica, este pigmento no presenta actividad óptica.

La Criptoxantina no presenta actividad óptica<sup>14</sup>.

**d) Potencia tintorial relativa de carotenoides:**

La utilización de cualquier tipo de colorante implica conocer la capacidad de tinte que ofrecerá al aplicarlo, por lo que una medida de la misma es la potencia tintorial relativa, en la que se define al valor de trans-  $\beta$  caroteno como valor unitario ( o sea de 100% ), para de éste referirse a los demás.

**TABLA 10.- Valores de potencia tintorial relativa al  $\beta$ -caroteno que presentan algunos carotenoides.**

Carotenoide	Potencia tintorial relativa
Metil bixina	1.31
Etil bixina	0.94
Bixina	3.53
Licopeno	2.85
Cantaxantina	4.76
Isozeaxantina	0.39
$\beta$ - Apo 8' carotenal	3.30

Ref. Borenstein, B.

Bunnell (1958).

Trans-beta caroteno = 1.00

### 1.1.6. Propiedades fisiológicas.

La mayor parte de la vitamina A que contiene el pescado ha sido ingerida preformada; aunque el pescado y los crustáceos tienen capacidad para convertir el  $\beta$ -caroteno en vitamina A<sup>46</sup> Cien partes de  $\beta$ -caroteno equivalen a 80 de vitamina A. Al agregar algún carotenoide con actividad de provitamina, se contribuye a mejorar nutricionalmente el alimento, como ocurre en Inglaterra donde las vitaminas A y D se añaden obligatoriamente a la margarina<sup>3</sup>.

a) Carotenoides que poseen actividad de provitamina A<sup>13,14,21,39,46</sup>:

**TABLA 11.- Actividad provitaminica A de algunos carotenoides.**

Carotenoide	IU x 10 <sup>6</sup> /g	% actividad vitaminica A por mol
$\beta$ -caroteno	1.667	100
$\alpha$ -caroteno	0.880	53
$\beta$ -Apo-8' carotenal	1.210	74
Éster etílico del ácido $\beta$ -Apo-8' carotenóico	0.4	40
Criptoxantina	0.918	57

Refs. Borenstein, Considine, Hall y Kirk.

b) Carotenoides que no poseen actividad de provitamina A:

Capsantina, Canthaxantina, Capsorrubina, Bixina.

### 1.1.7 Legislación.

Los colorantes se clasifican oficialmente en dos grupos:

- 1) Sujetos a certificación ( colorantes sintéticos )
- 2) Exentos de certificación ( en su mayor parte colorantes naturales )

Algunos colorantes del tipo carotenoide exentos de certificación por la FDA que

figuran en la parte 73 del Code of Federal Regulations, son el  $\beta$ -caroteno, el  $\beta$ -Apo 8' carotenal y la cantaxantina. En parte, los colorantes naturales están exentos de certificación porque son difíciles de caracterizar químicamente. Los actuales Colorantes se obtienen por extracción química, tratamiento por calor, remojo, deshidratación de los compuestos naturales y, en algunos casos, sintéticamente por reacciones químicas<sup>3,71</sup>. Los aditivos se clasifican según su uso, y en este caso, los colorantes se consideran aditivos que son capaces de modificar las características organolépticas del alimento<sup>50,81</sup>. A pesar de que los carotenos son los aditivos más seguros que se conocen y no se tiene un límite legal de las cantidades a agregar, se utiliza normalmente en un nivel de 3 a 3.5 mg/lb o bien de 1 a 25 ppm en alimentos<sup>26,29,57,81</sup>.

Los diluyentes o soportes autorizados para la elaboración de colorantes carotenoides y xantofilas son carragenatos y goma arábica<sup>50</sup>.

Algunos ejemplos de aplicación son:

**TABLA 12.- Cantidades de carotenoides utilizados en algunos alimentos.**

Carotenoide	Ejemplo
$\beta$ -caroteno	mantequilla 5.2 mg/lb; queso 2.1 mg/lb; jugo de frutas 1.32 mg/fl oz; bebidas 5.87 mg/29 fl oz; aceite de maíz 13.6 mg/fl oz.
$\beta$ -Apo-8' carotenal. FDA-21 CFR 73.95, 182.5245.	Se restringe su uso en alimentos en una cantidad no mayor de 15 mg/lb de alimento. 6.5 mg/lb tratándose de leche para elaborar queso; 1.09 mg/lb a queso; bebidas 0.44 mg/6 fl oz.
Cantaxantina. FDA-21 CFR 73.75.	Uso en una cantidad no mayor de 30 mg/lb de alimento sólido o pinta de alimento líquido. Sopa de tomate 6.1 mg/kg; salsa para espagueti 9.2 mg/kg; gelatina 55.6 mg/kg; queso 3.1 mg/lb.

Refs. Coufate, Farre, Hall, Lewis, Madrid y Nájera.

### **1.1.8 Aplicaciones en alimentos.**

La FDA ha aceptado tres carotenoides sintéticos como aditivos en la alimentación humana. El  $\beta$ -caroteno que proporciona un color que va del amarillo al naranja, es el más ampliamente empleado. El  $\beta$ -apo 8'carotenal confiere un color del naranja al rojo, y la canthaxantina color rojo. Otros conocidos son el licopeno y el ácido obtenido de  $\beta$ -apo 8'carotenal o su éster etílico. En las aplicaciones de los carotenoides como colorantes de los alimentos, se pueden establecer dos categorías: las grasas y las acuosas, ya que los cristales puros son raramente utilizados debido a su baja solubilidad y poca estabilidad. El primer grupo incluye margarinas, mantequillas, aceites, etc. por lo general, requieren del 20 al 30% de suspensión de carotenoides en un disolvente oleoso. La estabilidad de los carotenoides adicionados de este modo suele ser muy buena. Los alimentos acuosos, tales como bebidas, sopas, productos lácteos, productos cárnicos, jarabes o macarrones, requieren una preparación de carotenoides especial. Combinados con agentes tensoactivos pueden formarse con ellos microemulsiones que son adecuadas para colorear alimentos acuosos o bien preparaciones hidrodispersables formulando dispersiones coloidales, emulsificando los carotenoides o dispersándoles en los coloides apropiados<sup>8,14,16,25,29,57</sup>.

### **1.1.9 Carotenoides obtenidos de crustáceos.**

Los animales superiores son incapaces de llevar a cabo la biosíntesis de los carotenoides, aunque algunos peces convierten la luteína en astaxantina, pigmento rojo presente en el salmón, los cangrejos, las langostas, y otras especies marinas<sup>16,47</sup>, mismos que además tienden a acumular preferentemente pigmentos xantófilas en lugar de carotenos<sup>3</sup>.

Los complejos de proteína-carotenoide se encuentran distribuidos muy

abundantemente en la naturaleza, ya que esta asociación estabiliza al pigmento y también cambia el color, como sucede en el caso del carotenoide rojo astaxantina cuando se compleja con una proteína origina el colorante azul del caparazón de la langosta<sup>14,29,74</sup>. Muy a menudo la proteína está asociada con un lípido (lipoproteína) y este último al carotenoide absorbido o disuelto, cuya absorción máxima principal oscila entre 560 y 680 nm siendo de azul a verde. Sin embargo, también se conocen casos en las que existe una combinación directa entre los carotenoides y las proteínas como verdaderos grupos prostéticos, con una relación estequiométrica estricta entre el carotenoide y la proteína, son rojos a morados con su máximo entre 490 y 532 nm, excepcionalmente sus máximos son más bajos que los de los carotenoides libres<sup>16,25</sup>. El dermatoesqueleto del cangrejo de nieve *Chionectes opilio* ha sido empleado para obtener astaxantina y proteína. La hidrólisis con tripsina facilita liberar parte de la astaxantina y proteína como un complejo de carotenoproteína. Al comparar los resultados de este estudio con uno similar realizado con camarón (Simpson y Haard, 1985a,b), es mayor la recuperación de carotenoproteína en éste último<sup>51</sup>. Astaxantina, luteína y taraxantina son los mayores carotenoides en la mayoría de los peces rojos. (Goodwin, 1950). La astaxantina (3:3'-dihidroxi-4:4'-diceto-β-caroteno) en los cangrejos, la cual forma, por combinación con proteína, un colorante amarillo y tres azules los cuales son α, β y Φ-Crustacianina y que cuando se cuecen los cangrejos se libera astaxantina roja del complejo carotenoide-proteína de color verde<sup>8,14,16,51</sup>.

## **1.2 ASPECTOS IMPORTANTES DEL CAMARÓN.**

### **1.2.1 Especies existentes.**

Las especies de camarón más comunes o de mayor valor comercial que se encuentran en los litorales mexicanos, son las siguientes:

**TABLA 13.- Especies de camarón capturadas en México.**

Tipo de camarón	Golfo de México	Océano pacífico
Camarón rosado	<sup>1</sup> <i>Penaeus duorarum</i>	
Camarón rojo	<i>Penaeus brasillensis</i>	<sup>4</sup> <i>Penaeus brevirostris</i>
Camarón café	<sup>2</sup> <i>Penaeus aztecus</i>	<sup>1</sup> <i>Penaeus californiensis</i>
Camarón azul		<sup>2</sup> <i>Penaeus stylirostris</i>
Camarón blanco	<sup>3</sup> <i>Penaeus setiferus</i>	<sup>3</sup> <i>Penaeus vannamei</i>

Refs. Alcedo, Blancarte, González y Martínez.

Fuente: Subsecretaría de pesca, Instituto Nacional de pesca<sup>2,10,35,53</sup>.

Nota: La numeración es de acuerdo a su importancia comercial.

#### **1.2.2. Aspectos de comercialización.**

80 % de porción comestible.

**Tamaño comercial:** 20-30 cm. común.

**Peso promedio:** 30 g.

**Presentación comercial:** Fresco entero, descabezado congelado y cocido. No obstante que el Golfo produce menos camarón que el pacífico, es ahí donde el camarón congelado tiene un mayor grado de industrialización, ya que el producto se ofrece descabezado, pelado y desvenado, mientras que en el Pacífico únicamente se descabeza. Casi todo el camarón de exportación se congela en maquetas de 5 libras, crudo, descabezado y con cáscara. Dicho producto se destina principalmente a Estados Unidos y Japón<sup>2,11,30,53</sup>.

De 85,000 Toneladas de captura en peso vivo (1987)<sup>30</sup> un 30-35% lo constituyen desechos que en su mayor parte son arrojados al mar<sup>60</sup>.



**TABLA 14.- Composición química del camarón.**

Constituyente	Del camarón completo	De los desechos	Minerales
Proteínas	16.9% 21.2%	15.53%	S 366 mg/100g.
Calorías	104/100g.		Cl 2.55 mg/100g
Grasa	0.2 % 1.8%	1.2%	Fe 1.1 mg/100g
Carbohidratos	2.5% -	-	P 349 mg/100g
Cenizas	- -	7.3%	Na 1.59 mg/100g
Quitina	1.6 mg. -	4.9%	K 260 mg/100g Ca 145 mg/100g Mg 42 mg/100g

Refs. Amos y Ortiz.

El contenido de aceite: 1.2%, colesterol:157 mg./100 g. valores altos en comparación con crustáceos tales como cangrejos (1.1% aceite y 98 mg/100g.)<sup>21</sup>.

**1.2.3. Clasificación taxonómica.** Refs. Considine, González

**TABLA 15.- Nombre científico del camarón.**

Phylum	<i>Artropodos</i>
Subphylum	<i>Diantennata</i>
Clase	<i>Crustácea</i>
Subclase	<i>Malacostraca</i>
Orden	<i>Decápoda</i>
Familia	<i>Penaldae</i>
Género	<i>Penaeus</i>
Especies	<i>aztecus, duodarum,</i> <i>brasiliensis.</i>

#### **1.2.4. Descripción biológica<sup>17,53,74</sup>.**

Se describe el género *Penaeus*, ya que el aprovechamiento de las cabezas de camarón involucra a todas las especies. Estos crustáceos varían en tamaño de 7 a 25 cm., y su cuerpo es comprimido lateralmente, constituido por dos regiones: cefalotórax y abdomen. En el cefalotórax se encuentran fusionados la cabeza y el tórax, cubiertos por un caparazón formado de quitina y otras proteínas, en el cual se proyecta anteriormente un rostro largo y dentado, se articulan un par de antenas, un par de anténulas más o menos del mismo tamaño del cuerpo y un par de ojos. El abdomen está formado por seis segmentos libres, donde los cinco primeros presentan apéndices nadadores (pleopodos), en el sexto segmento se originan los úropodos que junto con el telson (cola) forman un abanico caudal muy importante ya que le permite hacer movimientos hacia atrás. Tiene cinco pares de patas, los tres primeros con quelas o pequeñas pinzas, aunque nunca bien desarrolladas.

Su color es pardo o rosado, a veces con el extremo posterior de la cola azulado, sin presentar alguna mancha particular en el cuerpo. La coloración varía dependiendo del ligero escalde que se les da en el muelle, y así como también de la especie.

#### **1.2.5 Efecto de la radiación gamma<sup>13,14</sup>.**

Se han realizado estudios del efecto que produce la radiación gamma en puré de tomate, puré de zanahoria y camarones. La estabilidad de los carotenoides presentes en estos productos fue excelente a dosis arriba de  $12 \times 10^6$  rep en los productos vegetales, pero la astaxantina contenida en los camarones decrece en un 60% a  $4 \times 10^6$  rep. y en el caso de tomates el daño ocurre a  $1 \times 10^6$  rep.

**TABLA 16.- Efecto de la radiación gamma en Astaxantina presente en camarones.**

TIPO	Dosis	AstaxantinaO
	rep X 106	D465
	AIRE	
Camarón crudo	ninguno	0.393
	1	0.218
	2	0.239
	4	0.164
Camarón hervido	ninguno	0.365
	1	0.261
	2	0.180
	4	0.165

Lukton y Mackinney (1956).

Ref. Borenstein, B.

### **1.3 MEDIDA DEL COLOR.**

La importancia de evaluar las características de una sustancia colorida, radica en conocer las posibles variaciones que presentará bajo diferentes condiciones adversas de aplicación y/o almacenamiento. En este caso, se trata de la medición en oleorresinas.

#### **1.3.1 Características colorimétricas.**

La percepción de los colores la determinan factores tales como: 1) el tono ("hue" en inglés), rojo, naranja, amarillo, etc.; 2) la variación (o saturación, o intensidad), ("chroma") muy rojo o menos rojo, según la proporción de gris presente en el color; y 3) la claridad (o gama), ("value") mezcla de un color con cantidades variables de blanco y negro<sup>19,48,50</sup>.

a) Unidades de color: visualmente, por comparación, se podría determinar si la

disolución de cierto pigmento en un disolvente puro es más clara o más oscura que otra, pero definitivamente influyen factores tales como la diferencia de percepción del investigador y las condiciones de iluminación en su lugar de trabajo. Por lo que es conveniente utilizar un método espectrofotométrico con el que se obtienen Unidades de Color en oleorresinas.

b) Matiz, Intensidad y Brillantez, utilizando el Espacio físico uniforme de colores. (Comisión Internacional de Iluminación).

En 1860, Maxwell propuso una construcción geométrica llamada "triángulo de los colores", en el cual cualquier color puede ser especificado en términos de cantidades relativas de rojo, verde y azul necesarias para producirlo dentro del mismo; dichas cantidades se conocen como "valores triestímulo". En todo caso, se ha encontrado conveniente expresar estos valores como fracciones de un total, las cuales se conocen como "coordenadas cromáticas", designadas como  $r$ ,  $v$  y  $a$ , (rojo, verde y azul, los colores primarios).

Para simplificar, dichos valores se pueden obtener matemáticamente de la siguiente manera:

$$v = v/v+r+a \quad r = r/v+r+a \quad a = a/v+r+a$$

en donde  $v+r+a=1$ .

Lo anterior puede generalizarse para todos los colores, obteniéndose así la calidad cromática (matiz e intensidad) característica de cada uno.

Por otra parte, se observa que la calidad del color resultante queda definido solo en un plano dimensional, no quedando clara la tercera característica de color, "brillantez o luminosidad", que se define como la intensidad de luz que representa un color<sup>48</sup>.

Para calcular la brillantez de un color, Grassman propone la teoría de que la brillantez producida por una mezcla de un cierto número de fuentes luminosas,

es la suma de la brillantez producida, por separado, de cada una de estas fuentes. Lo que significa que la suma de las fracciones apropiadas de luz roja, verde y azul producirán luz blanca, cuya luminosidad será proporcional a la suma algebraica de las luminosidades respectivas de los tres colores.

La naturaleza tridimensional del color involucra el uso de cantidades negativas de color que complican la manipulación matemática de las unidades de color. Por esta razón, entre 1920 y 1930 la C.I.I. decidió que, aunque el sistema  $r, v, a$  es apropiado para definir respuestas patrón, debía desarrollarse un nuevo sistema de referencia de estímulos, así que el sistema fundamental fue normalizado en 1931, llamándolo sistema colorimétrico tricromático combinado. Los colores se sintetizan mediante el cálculo en estímulos equivalentes desarrollados como combinaciones aditivas de tres colores primarios normales. Designados como funciones triestímulos, esos colores se basan en datos psicológicos y fisiológicos seguros, aunque hipotéticas, porque su existencia es puramente matemática. Esas funciones se representan por lo general gráficamente como las cantidades de cada color primario necesarias para emparejar el color de la unidad de energía en cada una de las tres longitudes de onda visibles. En la siguiente figura se pueden observar las funciones  $x, y, z$ .

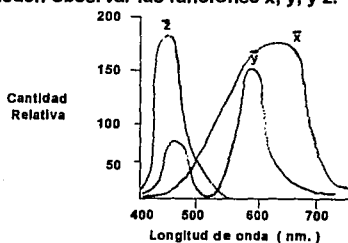


FIG. 2.- Valores de triestímulos, cantidades de los primarios C.I.I. necesarias para igualar la energía unidad en las longitudes de onda visibles.

Para mayor sencillez, los estímulos rojo, verde y azul se designan por  $x$ ,  $y$  y  $z$  respectivamente. La suma de  $x$ ,  $y$ ,  $z$  permite reconstruir por el ojo el color de una cantidad energética unitaria, de cada onda monocromática del espectro visible, entonces forman un espacio de color en relación al rojo, verde y azul, de tal manera que todo color del espectro pueda conformarse por cantidades positivas de ellos<sup>4,9,19,42,47,68</sup>.

Este sistema permite definir matemáticamente el proceso teórico de la visión cromática. Al especificar la cromaticidad del color, se necesita medir primero en un espectrofotómetro, la luz que es reflectada o transmitida por la muestra a intervalos de 5 nm. desde 380 hasta 780 nm., longitudes de onda límites aceptadas en milimicras de visión humana en condiciones normales<sup>4,9,19,46,48,65</sup>.

La longitud de onda dominante del color en cuestión da indicaciones sobre el matiz (o tonalidad), pero no es, necesariamente la del máximo del espectro de reflexión del objeto del color considerado. Si se transportan los valores de la coordenada cromática y de un grupo representativo de colores en función de los valores de  $x$ , se obtienen un diagrama de cromaticidad en el cual, dos de las tres dimensiones del color medido -longitud de onda dominante y pureza- se perciben en su correspondencia con el matiz y la saturación observados. El matiz es la diferencia más patente en los colores vividos del espectro, como el rojo, amarillo y verde. La saturación es la diferencia graduada entre uno cualquiera de esos matices fuertes y el blanco, el gris y el negro acromáticos. Si se transportan de esta manera gráficamente las cromaticidades de esos colores del espectro, las curvas tienen la forma de la figura siguiente:

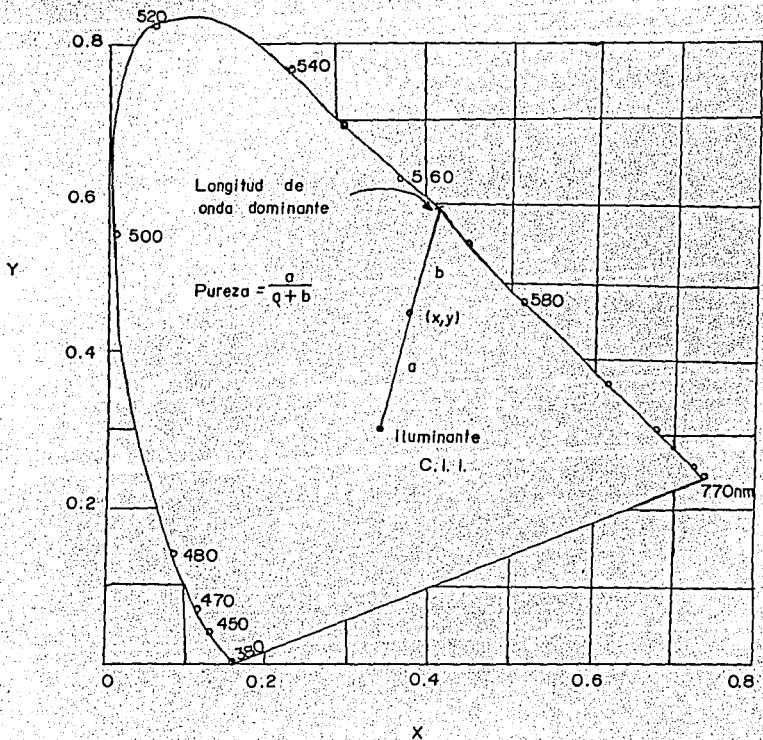


FIG. 3.-Diagrama de cromaticidad para observador normal C.I.I. y el iluminante C.

El espacio espectral C.I.I. contiene todos los colores reales, incluyendo los colores dentro y fuera del espectro visible. En el diagrama de cromaticidad de la C.I.I., trazando una línea recta desde el punto que representa la cromaticidad de la muestra hasta intersectar la longitud de onda dominante que se encuentra en el espacio espectral, se sabe, por la geometría de la figura, qué combinación adecuada de longitud de onda y de iluminante igualarán el color propio de la muestra. De esta manera, la longitud alcanzada sobre la línea de iluminante a través de la muestra, dé idea de la intensidad del color<sup>42,46</sup>. Además, el cociente de la distancia del iluminante a la muestra entre la distancia del iluminante a la longitud de onda se le conoce como pureza del color de la muestra. La pureza de una luz monocromática es igual a 1. En la naturaleza no se conocen colores puros<sup>9,19,41,46,65</sup>.

La descripción del color proporcionada por la determinación de la longitud de onda dominante y la pureza, únicamente se logra para colores dentro del espectro visible.

En el caso de colores fuera del espectro visible, se prefiere manejar una longitud de onda complementaria, la cual se obtiene trazando una línea desde la cromaticidad de la muestra, a través del iluminante y hasta topar con el espacio espectral donde ésta se haya. Para obtener la pureza de un color no espectral, se realiza el cociente de la distancia del iluminante a la muestra sobre la distancia del iluminante al límite del espacio espectral.

De acuerdo con lo anterior, se dice que el matiz de un color es análogo a la longitud de onda dominante, su intensidad análoga a la pureza y su brillantez a su luminosidad; puesto que son analogías, debe remarcarse que no siempre son iguales<sup>4,68</sup>. Esta reportado por Skrede en 1989 la aplicación del procedimiento a carotenoides<sup>80</sup>.



## **1.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.**

### **1.4.1. Experimento Factorial<sup>69,79</sup>.**

#### **a) Descripción.**

En los diseños experimentales es posible estar interesado en estudiar, simultáneamente, los efectos de dos a más variables. A las variables en estudio se les llamarán factores. El experimento en el que se investigan dos o más factores simultáneamente se le llama experimento factorial

No sólo pueden estudiarse los efectos de los factores individuales sino que, si se conduce apropiadamente el experimento, también puede estudiarse la interacción entre los factores. Se dice que existe interacción cuando los factores de algún nivel con algún nivel de otro factor produce un efecto diferente al efecto de alguna otra combinación de niveles de los dos factores. Por ejemplo, suponiendo que se estudia el efecto de la edad y el sexo sobre la capacidad de adquirir cierta destreza. Las variables edad y sexo son los factores. El sexo ocurre en dos niveles, masculino y femenino, y se tienen tres grupos de edad, 1, 2, y 3, entonces se dice que la edad ocurre en tres niveles. Si los individuos del sexo masculino en el grupo de edad 3 tienden a ser calificaciones superiores a las de otras combinaciones edad-sexo, se dice que existe interacción entre los factores edad y sexo.

#### **b)Ventajas.**

Las ventajas del experimento factorial incluyen las siguientes:

- 1.- Puede estudiarse la interacción entre los factores.**
- 2.- Se obtiene un ahorro de tiempo y esfuerzo.**

En el experimento factorial pueden usarse todas las observaciones con el fin de estudiar los efectos de cada uno de los factores bajo investigación. Cuando se están investigando dos factores, la alternativa sería conducir dos experimentos

diferentes, uno para estudiar cada uno de los dos factores. Si se hiciera esto, algunas de las observaciones proporcionarían información sólo de uno de los factores y el resto proporcionarían información sólo del otro factor. Para lograr el nivel de exactitud del experimento factorial, se necesitarían más unidades experimentales si se estudiarán los factores a través de dos experimentos. Entonces, se ve que un experimento de dos factores es más cómodo y económico que dos experimentos de un sólo factor.

3.- Como los diversos factores se combinan en un experimento, los resultados tienen un campo de aplicación más amplio.

c) Ejemplo. Un arreglo factorial puede estudiarse ordenando los datos como lo muestra la tabla siguiente:

**TABLA 17.- Ejemplo de ordenamiento de datos para una experimento factorial.**

FACTOR A Niveles	FACTOR B Niveles			Totales	Medias	
	1	2	3			
1	2	1	1	17	1.89	
	3	2	2			
	2	1	3			
2	3	5	4	41	4.55	
	4	6	5			
	3	5	6			
<b>Totales</b>	<b>17</b>	<b>20</b>	<b>21</b>	<b>58</b>		
<b>Medias</b>	<b>2.83</b>	<b>3.33</b>	<b>3.5</b>	<b>-</b>	<b>3.22</b>	
<b>Celdas</b>	<b>a1b1</b>	<b>a1b2</b>	<b>a1b3</b>	<b>a2b1</b>	<b>a2b2</b>	<b>a2b3</b>
<b>Totales</b>	<b>2+3+2</b>	<b>1+2+1</b>	<b>1+2+3</b>	<b>3+4+3</b>	<b>5+6+5</b>	<b>4+5+6</b>
<b>Medias</b>	<b>2.33</b>	<b>1.33</b>	<b>2</b>	<b>3.33</b>	<b>5.33</b>	<b>5</b>

Por lo que puede observarse corresponden los valores de totales y medias (58 y 3.22) obteniéndolos tanto para columnas como en renglones. Las celdas se refieren al grupo de repeticiones para el nivel 1 del factor A con todos los niveles del factor B, después el nivel 2 del factor A también con todos los niveles del factor B, y así sucesivamente, es conveniente que el número de observaciones por celda sea el mismo, en este caso.

Para analizar estos datos, supóngase un modelo de efectos fijos y un diseño completamente aleatorizado de dos factores.

d) Procedimiento.

1.- El modelo. El modelo de efectos fijos para el diseño completamente aleatorizado de dos factores puede escribirse como:

$$x_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + e_{ijk}$$

Dónde:

$$i = 1, 2, \dots, a; \quad j = 1, 2, \dots, b; \quad k = 1, 2, \dots, n.$$

$x_{ijk}$  es una observación típica,  $\mu$  es una constante,  $\alpha$  representa un efecto debido al factor A,  $\beta$  representa un efecto debido al factor B,  $(\alpha\beta)$  representa un efecto debido a la interacción de los factores A y B y  $e_{ijk}$  representa un error experimental.

2.- Suposiciones.

a) Las observaciones en cada una de las ab celdas constituyen una muestra aleatoria de tamaño n extraída de la población definida por la combinación particular de los niveles de los factores. En el ejemplo ilustrativo, se tiene una muestra de seis poblaciones.

b) Cada una de las ab poblaciones está normalmente distribuida.

c) Todas las poblaciones tienen la misma variancia.

3.- Hipótesis. Pueden probarse las hipótesis siguientes:

(1) -  $H_0: \alpha_i = 0 \quad i = 1, 2, \dots, a.$

$H_A: \text{no todos los } \alpha_i = 0$

(2) -  $H_0: \beta_j = 0 \quad j = 1, 2, \dots, b.$

$H_A: \text{no todos los } \beta_j = 0$

(3) -  $H_0: (\alpha\beta)_{ij} = 0 \quad i = 1, 2, \dots, a.$   
 $j = 1, 2, \dots, b.$

$H_A: \text{no todos los } (\alpha\beta)_{ij} = 0$

Se puede decidir probar una sola de las hipótesis posibles, antes de reunir los datos. En este caso, se selecciona la hipótesis que se desea probar, se elige un nivel de significación,  $\alpha$ . Cuando se prueban las tres hipótesis, la situación se complica, por el hecho de que las tres pruebas no son independientes en el sentido de la probabilidad.

Para el ejemplo ilustrativo, pueden probarse las hipótesis siguientes:

(1) -  $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = 0.$

$H_A: \text{no todos los } \alpha_i = 0.$

(2) -  $H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3 = 0.$

$H_A: \text{no todos los } \beta_j = 0.$

(3) -  $H_0: (\alpha\beta)_{ij} = 0$

$H_A: \text{no todos los } (\alpha\beta)_{ij} = 0 \quad \text{Sea } \alpha = .05.$

4.- Cálculos. La suma total de cuadrados bajo el presente modelo puede distribuirse en dos partes, como sigue:

$$\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n (x_{ijk} - \bar{x}_{...})^2 = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n (\bar{x}_{ij} - \bar{x}_{...})^2 + \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n (x_{ijk} - \bar{x}_{ij})^2$$

o bien,  $SC_{Total} = SC_{Tratamientos} + SC_{Residual}$ .

$$SC_{Tratamientos} = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n (x_{ij} - \bar{x}_{...})^2$$

$$SC_A = \sum_{i=1}^a (a_i)^2 / a$$

$$SC_B = \sum_{j=1}^b (b_j)^2 / b$$

$$SC_{AB} = SC_{Tratamientos} - SC_A - SC_B$$

$$SC_{Residual} = SC_{Total} - SC_{Tratamientos}$$

5.- La tabla de análisis de variancia. Los resultados de los cálculos para el modelo de efectos fijos para un experimento completamente aleatorizado de dos factores, en general puede presentarse como se muestra:

**TABLA 18.- Análisis de variancia para un experimento completamente aleatorizado de dos factores (Modelo de efectos fijos).**

Fuente	SC	g.l.	CM	R.V.
A	$SC_A$	a-1	$CM_A = \frac{SC_A}{(a-1)}$	$\frac{CM_A}{CM_{Resid.}}$
B	$SC_B$	b-1	$CM_B = \frac{SC_B}{(b-1)}$	$\frac{CM_B}{CM_{Resid.}}$
AB	$SC_{AB}$	(a-1)(b-1)	$CM_{AB} = \frac{SC_{AB}}{(a-1)(b-1)}$	$\frac{CM_{AB}}{CM_{Resid.}}$
Tratamientos	$SC_{Trat.}$	ab-1		
Residual	$SC_{Resid.}$	ab(n-1)	$CM_{Resid.} = \frac{SC_{Resid.}}{ab(n-1)}$	
Total	$SC_{Total}$	abn-1		

**6.- Decisión.** Si se cumplen las suposiciones que se enuncian al principio y si la hipótesis es verdadera, puede demostrarse que cada una de las razones de variancias que se muestran en la tabla anterior siguen una distribución F con los grados de libertad indicados, buscando esos valores en la tabla J percentiles de la distribución F, al nivel de significancia,  $\alpha$ . Cuando se rechaza  $H_0: \alpha_1 = \alpha_2$  se concluye que existen diferencias entre los niveles de A. De modo semejante, cuando se rechaza  $H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3$  se concluye que existen diferencias entre los niveles de B. Cuando se rechaza  $H_0: (\alpha\beta)_{ij} = 0$ , se concluye que los factores A y B se interactúan, es decir, diferentes niveles de los dos factores producen efectos diferentes. Cuando se rechaza la hipótesis de no interacción, el interés en los factores A y B por lo general se subordina al interés en los efectos de interacción. En otras palabras, se tiene más interés en saber que combinaciones de niveles son significativamente diferentes

#### **1.4.2. Ingeniería de Calidad<sup>27,76,82.</sup>**

##### **a) Descripción y ventajas.**

Los arreglos ortogonales han sido elaborados desde un punto de vista práctico, para ser utilizados en el mejoramiento de resultados, a partir de un mínimo de datos experimentales. Los aspectos estadísticos se analizan en conjunto con la cantidad de información requerida para ser evaluada durante el experimento. En este tipo de diseño experimental se determinan los efectos ocasionados por diversos factores, y la interacción entre ellos, sobre un determinado producto o proceso; maneja técnicas de aleatorización que permiten conocer las fuentes más importantes de variación de resultados, y por lo tanto, un mejor control sobre las mismas.

## **b) Procedimiento.**

De esta manera los principales pasos a seguir en este tipo de diseño experimental son:

### **1.- Selección de factores y/o interacciones a ser evaluadas.**

La determinación de los factores a someter a investigación depende directamente de las características intrínsecas de un producto o proceso, o bien, del interés perseguido.

### **2.- Selección del número de niveles para los factores.**

Generalmente es recomendable usar dos niveles diferentes y representativos de cada factor, con el objeto de minimizar el tamaño del experimento.

### **3.- Selección del arreglo ortogonal adecuado.**

La selección de que arreglo ortogonal usar depende de dos aspectos:

- El número de factores e interacciones de interés.

- El número de niveles para los factores de interés.

Ambos aspectos determinan el número total de grados de libertad requeridos para el experimento entero.

Existen dos clases básicas de arreglos ortogonales:

- Arreglos para dos niveles: L<sub>4</sub>, L<sub>8</sub>, L<sub>12</sub>, L<sub>16</sub> y L<sub>32</sub>.

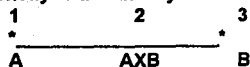
- Arreglos para tres niveles: L<sub>9</sub>, L<sub>18</sub> y L<sub>27</sub>.

Los números para la designación del arreglo indican el número de ensayos a realizar. De esta manera, el número total de grados de libertad disponibles en un arreglo ortogonal es igual al número de ensayos menos uno:

### **4.- Asignación de factores e interacciones en las columnas.**

Taguchi ha propuesto dos herramientas para ayudar a esta asignación:

**Gráficas lineales.** Si se considera como ejemplo el arreglo más simple ( $L_4$ ), se tienen cuatro ensayos a realizar y tres columnas, por lo que su gráfica es:



Esto significa que el factor A se asigna a la columna 1, el factor B a la columna 2, y la interacción AXB a la 3.

Se establece, de manera general, que los puntos de la gráfica representen las columnas a las cuales se asignarán factores específicos, y la línea entre ellos indica la columna a la cual se asigna la interacción entre ellos.

**Tablas triangulares.** Las tablas triangulares enlistan todas las posibles interacciones entre las columnas de un determinado arreglo. Siguiendo el ejemplo anterior se observa que las columnas 1 y 2 interactúan en 3, 2 y 3 en 1, 1 y 3 en 2, como se muestra a continuación:

Columna.	2	3
1	3	2
2	1	

#### 5.- Realización del experimento.

Una vez que los factores han sido asignados a las respectivas columnas del arreglo ortogonal seleccionado, la estrategia experimental queda establecida y el desarrollo del experimento puede comenzar; a continuación se presenta una tabla completa para un experimento tipo  $L_4$ :

Ensayo No.	Columna No.		
	1	2	3
1	1	1	1
2	1	2	2
3	2	1	2
4	2	2	1

El ensayo 3 requiere de  $A_2$  y  $B_1$ , por ejemplo, donde los subíndices numéricos significan el nivel del factor. Sin embargo, las condiciones de interacción no



pueden ser controladas en el transcurso del experimento, debido a que están en función de los factores principales. Es recomendable realizar los ensayos de manera aleatoria para proteger al experimentador de factores desconocidos e incontrolables, que debido a su variación durante el experimento pueden alterar los resultados.

#### 6.- Análisis de resultados.

$$1.- Fc = \text{factor de corrección} = \sum_{i=1}^N (Y_i)^2 / N = T^2 / N$$

Donde:

T= suma total de todas las respuestas.

N= número total de respuestas.

Si Y<sub>1</sub>, Y<sub>2</sub>, Y<sub>3</sub>, Y<sub>4</sub> son las respuestas de los ensayos 1, 2, 3 y 4 respectivamente, entonces:

$$2.- SC_{\text{Total}} = \sum_{i=1}^N (Y_i)^2 - T^2 / N$$

$$3.- SC_A = (A_1 - A_2)^2 / N \quad \text{ó} \quad \sum_{i=1}^{k_A} \frac{A_i^2}{n_{A_i}} - T^2 / N$$

Dónde:

SC= suma de cuadrados.

k<sub>A</sub>= número de niveles del factor A.

n<sub>A<sub>i</sub></sub>= número de respuestas bajo el nivel A<sub>i</sub>

En forma similar se realiza el cálculo de las interacciones a partir del arreglo ortogonal.

4.- Detallando, para AXB se tiene:

$$SC_{AXB} = \frac{(AXB_1 - AXB_2)^2}{N}$$

$$5.- SC_{\text{error}} = SC_{\text{Total}} - SC_i$$

Proporciona información de la variación total del error.

$$6.- V_i = SC_i / G.I._i$$

Varianza de cada columna.

$$7.- V_{\text{error}} = SC_{\text{error}} / G.I._{\text{error}}$$

Dónde:

$$G.I._{\text{error}} = G.I._{\text{totales}} - 1$$

los grados de libertad totales son igual al número de ensayos.

$$8.- SC'_i = SC_i - V_i (G.I._i)$$

$$9.- \%I = SC'_i / SC_{\text{Total}} \times 100$$

Este valor proporciona información acerca de la participación de cada factor e interacción a la variación total de resultados, en este caso indica cual es el factor que más repercute en cada característica colorimétrica conforme pasa el tiempo.

Una forma más sencilla de visualizar ese comportamiento de la influencia que ejerce cada factor conforme pasa el tiempo, es gráficamente los valores de tiempo contra % de influencia. De esa manera se simplifica considerablemente el entendimiento de tales comportamientos y se puede, entonces determinar cuales son las condiciones adversas de esos factores que afectan directamente al pigmento.

## ***CAPITULO II.- DISEÑO EXPERIMENTAL.***

### **2.1 Objetivos:**

**2.1.1 Objetivo general:** Optimizar la extracción del pigmento de origen natural, proveniente de cabezas de camarón, y determinar las características colorimétricas, así como la influencia de diversos factores en las mismas.

### **2.1.2 Objetivos particulares:**

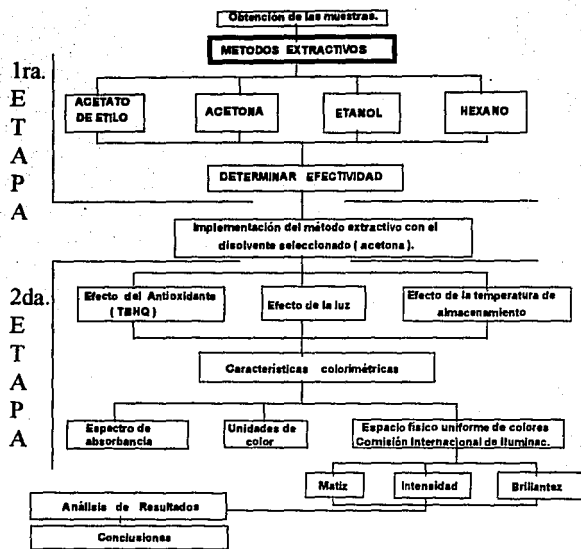
-Determinar los rendimientos promedio de pigmento modificando el método de extracción.

-Caracterizar colorimétricamente determinando las unidades de color, matiz, intensidad y brillantez.

-Analizar la influencia que ejercen factores tales como uso de antioxidante, presencia de luz y temperatura de almacenamiento en las propiedades del pigmento.

## 2.2 Metodología experimental:

### 2.2.1. Cuadro metodológico.

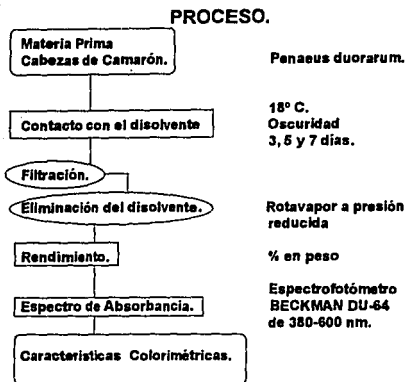


#### Descripción.

El trabajo experimental se dividió en dos etapas; la primera consistió en la selección del método extractivo para obtener un extracto con características adecuadas y mayores rendimientos, seleccionando como disolventes acetato de etilo, acetona, etanol y hexano. Habiendo establecido estas condiciones se procedió a implementar el método extractivo con el disolvente seleccionado para que, contando con el extracto, se pasara a la segunda etapa en la cual se

estudiaron las condiciones de estabilidad del colorante al exponerlo frente a condiciones adversas para establecer las condiciones de mayor estabilidad.

### 2.2.2. Métodos de Extracción.



Las recomendaciones compiladas a este respecto, indican que la capacidad de ciertas sustancias de disolver los compuestos presentes en materiales orgánicos, necesitan ser evaluadas de acuerdo al interés perseguido, ya que en ocasiones solo se limitan a mencionarlos sin ahondar en especificaciones de las condiciones de extracción, como en el caso de obtener la fracción lipídica por extracción de los alimentos con isopropanol/éter de petróleo (3:1 v/v) ó acetona<sup>8,13,14</sup> o bien buscando el poder elutivo y la solubilidad de carotenoides en los disolventes<sup>25,73</sup>. Tomando en cuenta que en estudios realizados en extraer carotenoides del cangrejo de nieve, crustáceo que presenta composición similar al camarón, se ha mostrado extracción con alcohol ( Manu 1987 ), ya que presentan baja solubilidad en solventes lipídicos corrientes.

Se partió de las muestras de un kilo para cada tipo de camarón realizando dos repeticiones y se procedió a realizar las extracciones con los siguientes disolventes:

a) Acetato de etilo b) Acetona c) Etanol d) Hexano

Los cuales fueron elegidos de acuerdo a algunas recomendaciones encontradas<sup>8,13,25,73</sup> y a la facilidad de obtenerlos en el laboratorio. Esta observación previa permitió comparar tanto rendimientos como unidades de color obtenidos de cada disolvente y elegir el de mejores resultados.

#### **PROCEDIMIENTO.**

Se mantuvieron las cabezas de camarón en contacto con el disolvente a razón de 2 litros/ kilo, durante 3, 5 y 7 días. A los tres días de que comenzó la extracción, se procedió a filtrar los sólidos en suspensión. Se eliminó el disolvente en un rotavapor a presión reducida, obteniendo un producto de color rojo intenso. Se realizaron una segunda y una tercera extracción empleando el mismo procedimiento a los días 5 y 7 de iniciado el proceso.

#### **2.2.3. Rendimiento.**

##### **PROCEDIMIENTO:**

El rendimiento fue considerado como el peso del producto obtenido finalmente, (al cual se ha eliminado el disolvente), entre el peso inicial de la materia prima (cabezas de camarón), por cien:

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{\text{Peso de pigmento}}{\text{Peso de las cabezas}} \times 100$$

#### **2.2.4. Propiedades.**

- Análisis en la región del espectro visible.

a) Espectro de absorbancia: Se realizó un barrido en un espectrofotómetro BECKMAN DU-64 en la región visible de 350-600 nm.

## PROCEDIMIENTO.

Se pesaron muestras de 0.003 g. par diluir a 10 ml. de Cloroformo, así que dichas disoluciones se leyeron con este disolvente como blanco de referencia. Tales espectros se utilizaron para determinar las propiedades colorimétricas que se mencionan adelante, utilizando los valores de transmitancia desde 380 hasta 650 a intervalos de 5 nm. También en base a los barridos se determinó la longitud de onda a la cual se observa la máxima absorbancia para cada una de las mezclas.

### b) Determinación de unidades de color.

En el caso del carotenoide obtenido en este estudio, se empleó el espectrofotómetro marca Beckman modelo DU-64, para determinar unidades internacionales de color aplicando a oleoresinas mediante el método proporcionado por la empresa Amco Internacional S.A. de C.V. Según los datos proporcionados por la compañía citada, un colorante de calidad aceptable debe tener al menos 20,000 unidades de color<sup>77</sup>.

## PROCEDIMIENTO.

En un matraz ámbar aforado de 100 ml. se pesan de 30 a 50 mg. de la muestra y se afora con acetona al 100%. En un segundo matraz ámbar aforado de 100 ml. se agrega 1 ml. de la solución anterior y se afora usando acetona al 100%. Se lee la absorbancia a 460 nm. usando acetona al 100% como blanco; dicha lectura debe tomarse en un tiempo máximo de cinco minutos a partir de realizada la primera dilución.

El cálculo de las unidades de color se realiza empleando la fórmula siguiente:

$$U.C. = \frac{(Absorbancia) (66,000)}{g. de muestra}$$

**c) Determinación de brillantez, intensidad y matiz. (Características de calidad cromática).**

Se elaboró un programa de computación en lenguaje Basic, el cual facilitó en gran medida la serie de cálculos necesarios para la obtención de las coordenadas cromáticas ( $x, y$ ) y brillantez ( $z$ ). Este programa realiza todas las operaciones matemáticas a partir de los datos de transmitancia obtenidos a cada cinco nanómetros a partir del espectro de absorbancia obtenido en el inciso a) de ésta misma parte.

#### **PROCEDIMIENTO.**

La evaluación de un color (cromaticidad) se consigue matemáticamente definiendo las coordenadas de cromaticidad como sigue: Se elige la fuente de luz C.I.I. (ó iluminante E) de las condiciones de trabajo en las que se analizan las muestras:

Fuente CII A ( $E_A$ )= Luz incandescente.

Fuente CII B ( $E_B$ )= Simulación de luz solar de mediodía.

Fuente CII C ( $E_C$ )= Simulación de luz de día nublado.

Por lo que el tipo  $E_C$  de fuente C.I.I. es el más adecuado, y de la tabla de distribuciones de energía espectral de muestras CII estandar para A, B y C, se toman los correspondientes a  $E_C$  para cada longitud de onda. Como se mencionó anteriormente, la CII establece las funciones  $x$ ,  $y$ ,  $z$ , como patrones teóricos que expresan la respuesta al color de el ojo humano normal, la cual es una descripción numérica considerada por un observador standard CII. Se multiplican cada uno de los valores primero de  $x$  por el factor de energía correspondiente a las longitudes de onda. Se realiza de igual forma con las otras dos funciones ( $y, z$ ). Después, el producto obtenido ( $x E_C$ ,  $y E_C$ ,  $z E_C$ ) se multiplica a su vez por la reflectancia (R) o transmitancia (T) obtenida a cada longitud de



onda, de el barrido en el espectro de luz visible. Los valores X, Y y Z son los valores triestímulo:  $X = \sum x E_C R$      $Y = \sum y E_C R$      $Z = \sum z E_C R$

Las coordenadas de cromaticidad  $x, y, z$ , quedan definidas con las siguientes ecuaciones:

$$x = \frac{X}{X+Y+Z} \quad y = \frac{Y}{X+Y+Z} \quad z = \frac{Z}{X+Y+Z}$$

La suma  $X+Y+Z$  es, necesariamente, igual a la unidad; por lo tanto para determinar la cromaticidad de un color basta con especificar 2 coeficientes.

El valor  $z$  representa directamente a la brillantez. Al ubicar la coordenadas  $x, y$  en el diagrama C.I.I. (Fig.3) se obtiene el valor de long. de onda de máxima absorbancia que es el matiz, para que por último la pureza sea el cociente de la distancia del punto Iluminante C a  $x, y$  entre el total de la línea hasta que choca con la herradura.

#### 2.2.5. Implementación del método extractivo con el disolvente seleccionado.

##### PROCEDIMIENTO.

Se extrajeron 8 kilos de cabezas de camarón, para contar con suficiente pigmento para los experimentos posteriores.

Se procedió a realizar las pruebas de estabilidad del pigmento frente a factores como presencia o ausencia de Antioxidante (TBHQ: Butil hidroquinona terciaria. P.M.166.22 en forma de cristales blancos, efectivo antioxidante utilizado en productos oleosos estabilizando las grasas y aceites presentes en alimentos), presencia o ausencia de luz y temperatura de almacenamiento, sobre las características colorimétricas del pigmento de origen natural extraído de cabezas de camarón.

**a) Selección del número de niveles para los factores.**

<b>FACTOR</b>	<b>NIVEL 1</b>	<b>NIVEL 2</b>
<b>Antioxidante</b>	<b>sin antioxidante</b>	<b>con antioxidante</b>
<b>Presencia de luz</b>	<b>con luz</b>	<b>sin luz</b>
<b>Temperatura de almacenamiento</b>	<b>ambiente</b>	<b>refrigeración</b>

**b) Selección del arreglo ortogonal adecuado.**

Para asignar un gráfico lineal se tomaron en cuenta las interacciones deseadas. De acuerdo a este arreglo se obtuvo un diseño de resolución 4, en el que todos los factores e interacciones, pueden estimarse sin que exista confusión entre ellos. Se decidió hacer una sola repetición por evento para obtener un 90% de confiabilidad en la detección de un cambio de aproximadamente 1/3 de la desviación estándar. El orden para realizar los eventos fue aleatorización completa entre bloques. En suma, el modelo estadístico permitió evaluar, mediante la realización de 8 ensayos con dos diferentes niveles extremos, el peso de los factores e interacciones sobre las variables de respuesta seleccionadas.

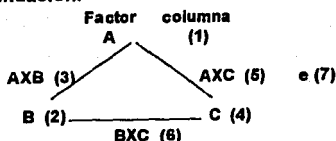
Habiendo determinado las variables principales y de acuerdo con el número de factores y niveles seleccionados, se puede conocer la influencia de cada variable y de la interacción de las variables entre si, mediante una distribución de arreglo ortogonal L8 para conducir el experimento.

**c) Asignación de los factores e interacciones de las columnas.**

Quando se dibuja el arreglo triangular se nombra arreglo ortogonal, y en cada vértice representa el efecto de una variable y las líneas entre los puntos representan el efecto de la interacción de las variables a que están unidos.

Para efectuar esta asignación, se utiliza una gráfica lineal en forma de triángulo,

como se muestra a continuación:



De acuerdo con la figura anterior, y ubicando a los diferentes factores en los vértices de la misma, el ordenamiento de columnas quedó como sigue:

Ensayo no.	Factores e Interacciones.							
	Columna	A	B	AXB	C	AXC	BXC	e
1	1	1	1	1	1	1	1	1
2	1	1	1	2	2	2	2	2
3	1	2	2	1	1	2	2	2
4	1	2	2	2	2	2	1	1
5	2	1	2	1	2	1	2	2
6	2	1	2	2	1	2	2	1
7	2	2	1	1	2	2	2	1
8	2	2	1	2	1	1	2	2

Donde:

A= Antioxidante.

B= Presencia de luz.

AXB= Interacción entre antioxidante y luz.

C= Temperatura de almacenamiento.

AXC= Interacción entre antioxidante y temperatura de almacenamiento.

BXC= Interacción entre presencia de luz y temperatura de almacenamiento.

e= error

De esta forma, la estrategia experimental quedó establecida y se procedió a desarrollar el experimento, en donde los números 1 y 2 representan los niveles de los factores. Considerando que todo el nivel 1 involucro las condiciones adversas a las que se puede someter la mezcla obtenida, que es como se trabajó

en parte de la observación previa. Los datos requeridos por este tipo de arreglo se cubren con los experimentos establecidos, específicamente para cada ensayo, y de acuerdo al diseño experimental, se tuvieron las siguientes condiciones:

**Ensayo 1: Sin antioxidante, frasco transparente, temperatura ambiente.**

**Ensayo 2: Sin antioxidante, frasco transparente, refrigeración.**

**Ensayo 3: Sin antioxidante, frasco ámbar, temperatura ambiente.**

**Ensayo 4: Sin antioxidante, frasco ámbar, refrigeración.**

**Ensayo 5: Con antioxidante, frasco transparente, temperatura ambiente.**

**Ensayo 6: Con antioxidante, frasco transparente, refrigeración.**

**Ensayo 7: Con antioxidante, frasco ámbar, temperatura ambiente.**

**Ensayo 8: Con antioxidante, frasco ámbar, refrigeración.**

La preparación de los 8 ensayos involucró la utilización de:

- 4 litros de acetona, a razón de 500 ml. para cada ensayo.

- 800 gramos de cabezas de camarón, 100 g. cada lote.

### **Capítulo III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.**

#### **3.1 Experimentos de observación previa**

a) **Extracción:** tres tipos de cabezas de camarón: rosado, cristal y acamaya, fueron sometidas a extracción con acetato de etilo como disolvente a 3, 5 y 7 días.

Se eligió acetato de etilo como disolvente en la extracción del pigmento porque " debido a la elevada polaridad que presenta extrae una mayor cantidad de compuestos " y estudios previos realizados por Estrada y Valdés lo utilizaron.

La extracción se realizó a temperatura de laboratorio (18°C.) en obscuridad, concentrando en rotavapor a cada tiempo; las cantidades de pigmento obtenidas en cada ocasión se colocan en un mismo recipiente ámbar hasta finalizar.

**TABLA 19.- Rendimientos (%) y Unidades de Color obtenidos con los diferentes tipos de camarón.**

<b>Tipo de camarón</b>	<b>Rendimientos (%)</b>	<b>Unidades de color. (U.C.)</b>
<b>Rosado</b>	<b>0.98</b>	<b>4 720.50</b>
<b>Cristal</b>	<b>0.88.</b>	<b>4 207.20</b>
<b>Acamaya</b>	<b>0.96</b>	<b>19 587.30</b>

A partir de estos datos se puede observar que el camarón tipo acamaya muestra las unidades de color más elevadas, pero desafortunadamente no es práctica común que este tipo de camarón lo comercialicen descabezado.

Fue necesario realizar una separación en embudo cuando se eliminó el disolvente, así como también una filtración, llevando a rotavapor sólo el disolvente que presenta coloración naranja, y obtener entonces el producto oleorresinoso de color rojo oscuro.

**b) Cromatografía:** la cromatografía en placa fina con sílica gel como fase estacionaria, y sistema hexano-acetato de etilo como fase móvil se realizó desde el comienzo de la extracción para realizar el seguimiento, mostró presencia de compuestos similares para cualquier tipo de cabeza de camarón; presentó en la parte media al colesterol y en la superior mezcla de compuestos coloridos.

En la columna cromatográfica se obtuvieron fracciones que no presentan coloración (aunque un marcado olor desagradable), a 100% hexano. A la mitad del proceso se obtiene una fracción colorida la cual presenta 11 929 unidades de color en un sistema 80:20. Al dejar de percibir presencia de color se cambia al sistema 70:30 en donde se da otra fracción colorida con 12 586 unidades de color para finalizar la cromatografía a 50:50 Hexano:Acetato de Etilo. En la parte de 90:10 H:A se obtiene colesterol, puesto que estas fracciones presentan formación de cristales, y debido a que la siguiente fracción es la colorida, se puede verificar que al eliminar este contaminante aumentan las unidades de color.

**c) Rendimiento.**

**TABLA 20.- Rendimientos (%) obtenidos con los diferentes disolventes utilizados para cada uno de los tiempos de extracción propuestos.**

DISOLVENTE	Rendimientos (%)		
	Días.		
	3	5	7
ACETATO DE ETILO	1.00	0.33	0.47
	1.40	0.60	0.40
	1.00	0.60	0.60
ACETONA	0.70	0.90	0.30
	0.30	1.70	0.30
	0.95	0.85	0.35
ETANOL	1.00	0.35	0.25
	0.75	0.85	0.20
	2.50	0.80	0.10

**Experimento factorial 1.**

**Influencia de los factores: tiempo de extracción y disolvente utilizado sobre el rendimiento obtenido.**

- Se rechaza  $H_0$ :  $\alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3$  ya que  $R.V. = 54.8205$  es mucho mayor que  $F_{.95} = 3.55$ , por lo que se concluye que existen diferencias entre los niveles de A, es decir que el tiempo de extracción sí tiene influencia sobre el rendimiento obtenido.

- Se acepta  $H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3$  porque  $R.V. = 0.1795$  es menor que  $F_{.95} = 3.55$ , por lo que se concluye que no existen diferencias entre los niveles de B, es decir que el disolvente utilizado no tiene influencia en los rendimientos obtenidos.

- Se rechaza  $H_0: (\alpha\beta)_{jj} = 0$  ya que  $R.V. = 7.7628$  es mayor que  $F_{.95} = 2.93$ , por lo que se concluye que los factores A y B se interactúan, es decir diferentes niveles de los dos factores producen efectos diferentes sobre los rendimientos obtenidos.

La primera extracción realizada a los tres días tiene el más alto rendimiento y se observa que en las subsecuentes extracciones a 5 y 7 días, el rendimiento va en descenso.

En la extracción con acetona se observó un color muy intenso en el pigmento obtenido, que se reflejó en el aspecto descolorido que presentaron las cabezas.

En el caso de la extracción con etanol, se extrajo una cantidad de grasa considerable, que quedaba adherida a las paredes y era muy visible.



#### d) Unidades de color

Fueron empleadas como un indicador de una mayor o menor extracción. Según los datos proporcionados por la empresa Amco Internacional S.A. de C.V., para ser considerado como un colorante de calidad aceptable es necesario que alcance 20,000 unidades de color, y en ninguno de los casos se logró.

**TABLA 21.- Unidades de color (U.C.) de los pigmentos obtenidos con los diferentes disolventes utilizados para cada uno de los tiempos de extracción propuestos.**

DISOLVENTE	Unidades de color. ( U.C. )		
	Días.		
	3	5	7
ACETATO DE ETILO	3504.16	4010.00	5727.27
	2998.20	3831.21	4704.95
	3302.41	3016.10	3060.48
ACETONA	3820.10	5181.73	6906.97
	4126.07	4727.18	4790.32
	4010.61	4231.26	4224.00
ETANOL	2021.47	2915.32	3832.26
	2813.10	3616.18	4909.09
	1897.83	2527.99	2772.00

#### Experimento factorial 2.

**Influencia de los factores:** tiempo de extracción y disolvente utilizado sobre las unidades de color.

- Se acepta  $H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3$  ya que  $R.V. = 6.36$  es menor que  $F_{.995} = 7.21$ , por lo que se concluye que no existen diferencias entre los niveles de A, es decir que el tiempo de extracción no tiene influencia sobre las unidades de color obtenidas.

- Se rechaza  $H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3$  porque R.V.= 8.89 es mayor que F en cualquier nivel de significación, por lo que se concluye que existen diferencias entre los niveles de B, es decir que el disolvente utilizado tiene influencia en las unidades de color obtenidas.

- Se acepta  $H_0: (\alpha\beta)_{ij} = 0$  ya que R.V.= 0.083 es menor que F en cualquier nivel de significación, por lo que se concluye que los factores A y B no se interactúan, es decir diferentes niveles de los dos factores no producen efectos sobre las unidades de color obtenidas.

Entonces se comprueba que el disolvente utilizado ( Factor B ) si presenta diferencias para las unidades de color obtenidas.

Basándose sólo en resultados de rendimiento el uso de cualquiera de los disolventes sugeridos para realizar la extracción es indistinto, pero de acuerdo a los resultados del análisis estadístico obtenido para las Unidades de Color es notorio el aumento de éstas en el pigmento que corresponden al extracto con acetona, por lo cual se elige como el disolvente para continuar con la experimentación planteada en el Diseño de Ingeniería de Calidad.

### 3.2 DISEÑO EXPERIMENTAL DE INGENIERIA DE CALIDAD.

TABLA 22.-Resultados de Características colorimétricas para los ensayos propuestos en el diseño de Ingeniería de Calidad.

CARACTERÍSTICA COLORIMÉTRICA	TIEMPO	ENSAYO 1	ENSAYO 2	ENSAYO 3	ENSAYO 4	ENSAYO 5	ENSAYO 6	ENSAYO 7	ENSAYO 8
UNIDADES DE COLOR	INICIAL	4561.5551	4561.5551	4561.5551	4561.5551	4542.5101	4542.5101	4542.5101	4542.5101
	1 SEMANA	5462.0690	6816.9014	3122.5806	4063.6943	9870.5357	4570.2648	5199.1247	6174.6362
	2 SEMANAS	1881.5789	5331.8777	1013.1579	4960.3340	9530.1724	4714.2857	9067.5676	6215.2466
	3 SEMANAS	4714.2857	5814.9780	4037.9747	4909.0909	8231.9475	5336.1702	8176.9912	6234.0862
	7 SEMANAS	1512.5000	1851.7034	1466.6667	1606.4909	3567.5676	6709.5436	3265.9794	5128.8344
MATIZ	INICIAL	585	585	585	585	587	587	587	587
	1 SEMANA	580.0	588.0	572.5	578.0	588.0	570.0	580.0	583.0
	2 SEMANAS	569.0	578.5	570.0	580.0	581.0	582.5	583.5	583.5
	3 SEMANAS	570.0	575.0	570.0	577.5	581.0	580.0	582.5	580.0
	7 SEMANAS	576.0	576.0	560.0	573.5	573.5	583.0	572.5	581.5
INTENSIDAD	INICIAL	0.1871	0.1871	0.1871	0.1871	0.1832	0.1832	0.1832	0.1832
	1 SEMANA	0.1515	0.1818	0.1176	0.0625	0.1765	0.0857	0.1515	0.1667
	2 SEMANAS	0.1143	0.1818	0.1143	0.1692	0.2727	0.3030	0.3284	0.2121
	3 SEMANAS	0.0857	0.1212	0.0714	0.1194	0.2000	0.1875	0.1970	0.1343
	7 SEMANAS	0.0758	0.0606	0.0625	0.1212	0.1194	0.1818	0.1212	0.1875
BRILLANTEZ	INICIAL	0.3121	0.3121	0.3121	0.3121	0.3113	0.3113	0.3113	0.3113
	1 SEMANA	0.3205	0.3211	0.3282	0.3418	0.2964	0.3365	0.3183	0.3115
	2 SEMANAS	0.3352	0.3057	0.3297	0.3135	0.2751	0.2598	0.2569	0.2858
	3 SEMANAS	0.3524	0.3252	0.3478	0.3198	0.3046	0.3100	0.3009	0.3170
	7 SEMANAS	0.3537	0.3417	0.3573	0.3304	0.3318	0.2978	0.3246	0.3012

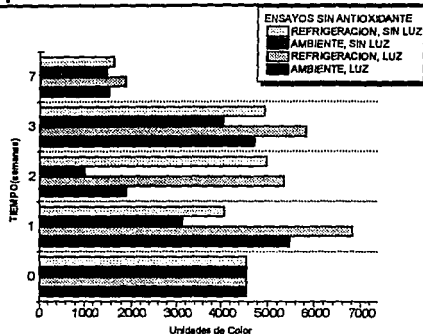
**TABLA 23.- Datos requeridos para obtener las gráficas de Tiempo Vs. % de influencia en cada una de las Características colorimétricas.**

CARACTERÍSTICA COLORIMÉTRICA	TIEMPO	Antioxidante	Luz	Interacción Antioxidante-Luz	Temperatura de almacenamiento	Interacción Antioxidante-Temperatura	Interacción Luz-Temperatura
UNIDADES DE COLOR	INICIAL	99.9999	0	0	0	0	0
	1 SEMANA	16.9342	27.9681	1.7236	1.7290	18.4128	14.4348
	2 SEMANAS	52.6130	0.0080	1.0228	0.0144	44.7249	1.1929
	3 SEMANAS	53.4557	0.4040	4.3485	6.0769	34.2942	0.3868
	7 SEMANAS	70.9917	2.2402	1.2009	14.2628	9.7146	1.0368
MATIZ	INICIAL	100	0	0	0	0	0
	1 SEMANA	0.2628	6.5713	21.2911	0.0946	34.1604	14.3938
	2 SEMANAS	57.4367	1.8987	0.0527	23.2595	17.0886	0.0527
	3 SEMANAS	72.1471	1.2012	0.0751	6.0811	19.2190	0.0750
	7 SEMANAS	22.8435	16.1184	9.3567	37.4269	0.9137	6.1769
INTENSIDAD	INICIAL	100	0	0	0	0	0
	1 SEMANA	4.1789	8.7911	40.7414	9.3838	2.4024	0.3905
	2 SEMANAS	76.0153	0.6032	0.1348	0.3498	11.4655	6.6885
	3 SEMANAS	73.3596	3.7192	1.1441	0.0490	17.9197	1.0120
	7 SEMANAS	61.5557	2.2011	1.1610	21.7339	5.3205	4.4364
BRILLANTEZ	INICIAL	100	0	0	0	0	0
	1 SEMANA	21.0090	5.6238	8.7178	19.8233	3.2052	10.0969
	2 SEMANAS	82.6709	0.1911	0.0586	1.9976	6.8172	6.4096
	3 SEMANAS	62.9652	0.2225	0.8769	5.6300	29.1638	0.4859
	7 SEMANAS	60.9859	0.4946	0.0569	34.6817	1.2799	0.0691

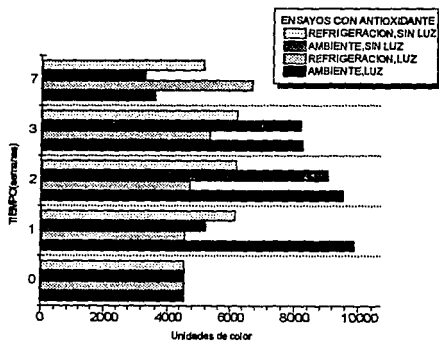
### 3.2.1 Unidades de Color.

#### a) Comportamiento de Unidades de Color para cada ensayo.

**GRÁFICA 1.- Comportamiento de Unidades de Color SIN ANTIOXIDANTE.**



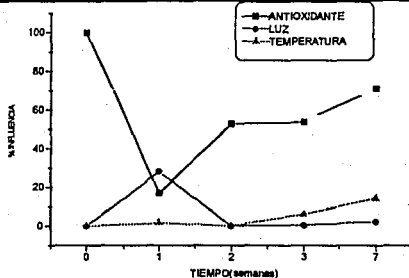
**GRÁFICA 2.- Comportamiento de Unidades de Color CON ANTIOXIDANTE.**



Aumentan las Unidades de color en gráfica 2 con antioxidante, y con temperatura de refrigeración en ambas gráficas, sobresalen por encima de los demás.

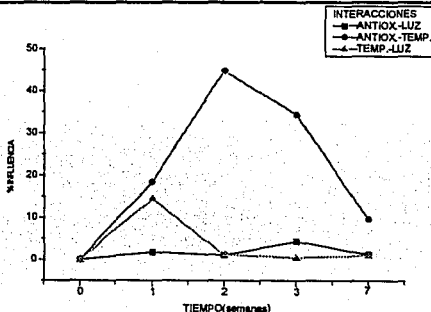
b) Influencia de los factores en las Unidades de Color.

GRÁFICA 3.- Influencia de los factores independientes en las Unidades de Color.



c) Influencia de las interacciones en las Unidades de Color.

GRÁFICA 4.- Influencia de interacciones en las Unidades de Color.

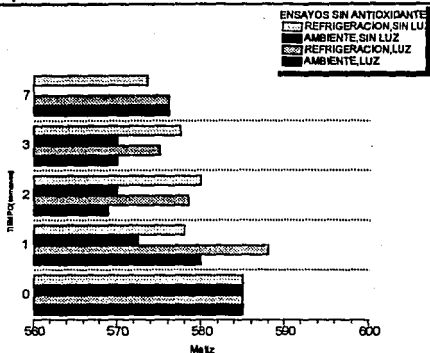


En la gráfica 3, el antioxidante tiene mayor influencia debido a que el producto oleorresinoso se conserva por más tiempo si se le agrega éste, y a pesar de que a la primer semana se observa un descenso, después se mantiene sobre los otros dos factores. La luz no ejerce influencia significativa. La interacción predominante es antioxidante-temperatura, como en la gráfica anterior.

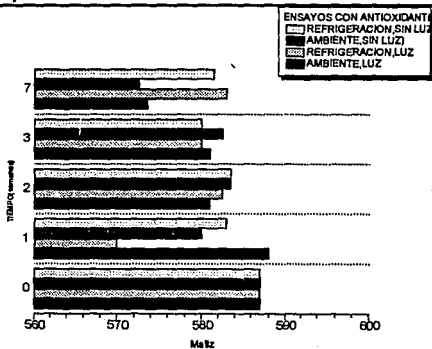
### 3.2.2 Matiz.

#### a) Comportamiento del Matiz para cada ensayo.

**GRÁFICA 5.- Comportamiento del Matiz SIN ANTIOXIDANTE.**



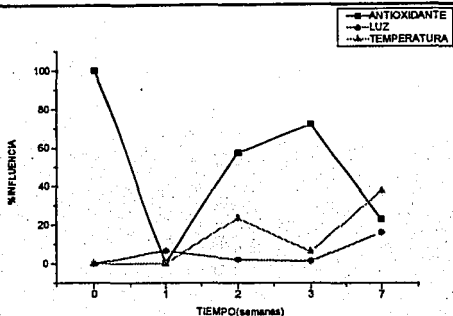
**GRÁFICA 6.- Comportamiento del Matiz CON ANTIOXIDANTE.**



El comportamiento se limita a cierto intervalo. En graf. 5 sin antiox. a temp. ambiente se degradan a semana 1; con antioxidante se conservan más tiempo.

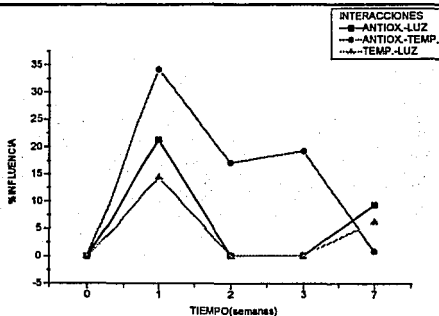
**b) Influencia de los factores independientes en el Matiz..**

**GRÁFICA 7.- Influencia de los factores en el Matiz..**



**c) Influencia de las interacciones en el Matiz.**

**GRÁFICA 8.- Influencia de las interacciones en el Matiz**



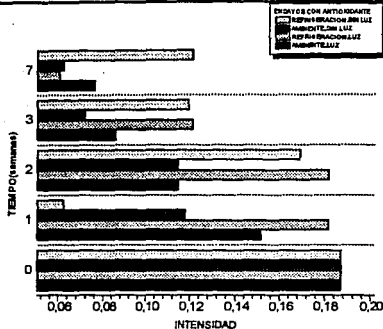
Predomina la influencia del antioxidante, tanto en forma independiente( graf. 7 ), como interaccionando con la temperatura en la graf. 8 la cual a séptima semana aumenta su influencia. Las interacciones Antioxidante-luz y Temperatura luz presentan comportamiento similar, no mayor que el de antioxidante-temperatura.



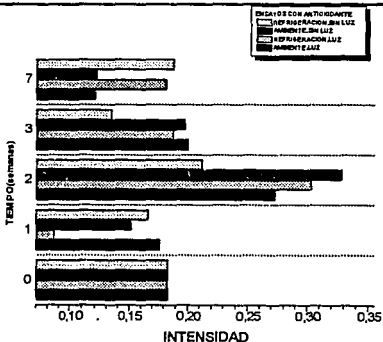
### 3.2.3 Intensidad.

#### a) Comportamiento de Intensidad para cada ensayo.

**GRÁFICA 9.- Comportamiento de Intensidad SIN ANTIOXIDANTE.**



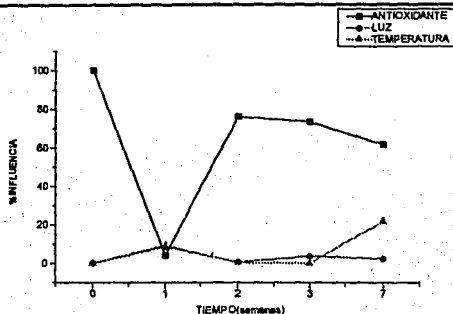
**GRÁFICA 10.- Comportamiento de Intensidad CON ANTIOXIDANTE.**



Los ensayos en refrigeración de la graf. 9 son de mas intensidad en comparación con los demás, aunque no mayor que los de la graf. 10 a esa temperatura debido en éstos se uso antioxidante, él cual impide su degradación.

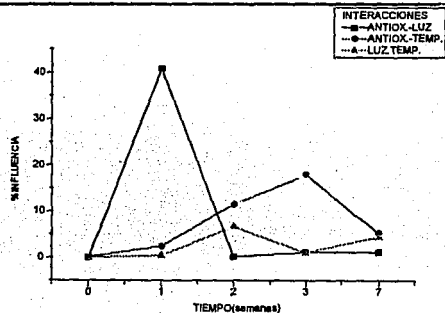
b) Influencia de los factores independientes en la intensidad

GRÁFICA 11.- Influencia de los factores en la intensidad



c) Influencia de las interacciones en la intensidad.

GRÁFICA 12.- Influencia de las interacciones en la intensidad.

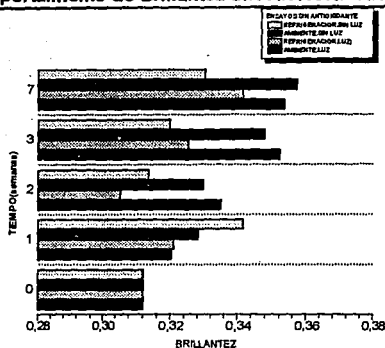


La graf. 11 presenta mayor influencia de antioxidante, manteniéndose elevada hasta la semana 7, mientras que en la graf. 12 hay disminución de la influencia de la interacción Antioxidante-luz a la semana 2, aumento de las interacciones restantes. La influencia de temperatura. es determinante en la intensidad.

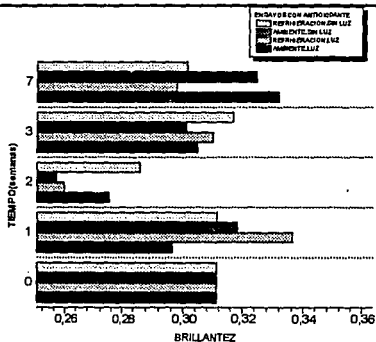
### 3.2.4 Brillantez..

#### a) Comportamiento de Brillantez para cada ensayo.

**GRÁFICA 13.- Comportamiento de Brillantez SIN ANTIOXIDANTE.**



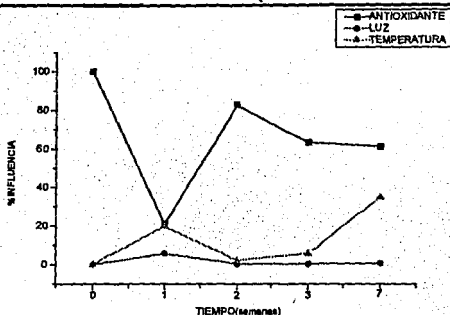
**GRÁFICA 14.- Comportamiento de Brillantez CON ANTIOXIDANTE.**



La brillantez de la gráfica 13 sin antioxidante presentó valores mayores que en el caso de los ensayos con antioxidante de la gráfica 14, debido posiblemente a que el antioxidante opaca al pigmento e interfiere en la brillantez.

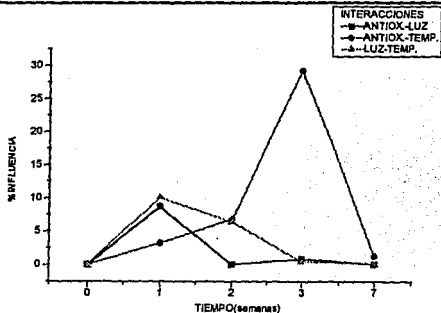
b) Influencia de los factores independientes en la Brillantez.

GRÁFICA 15.- Influencia de los factores independientes en la Brillantez.



c) Influencia de las interacciones en la Brillantez.

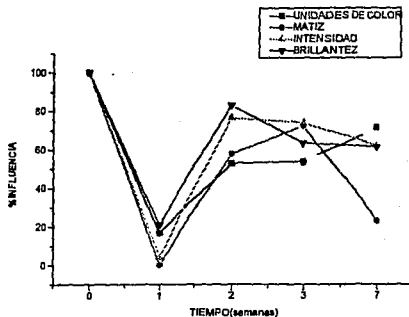
GRÁFICA 16.- Influencia de las interacciones en la Brillantez.



Es predominante la influencia del antioxidante en ambas gráficas, ya que en la 15 y en la 16 en combinación con la temperatura es el factor que sobresale por encima de los demás. La temperatura conserva al pigmento por lo que ambos factores contribuyen a mantener las características colorimétricas.

### 3.2.5 influencia del Antioxidante en las Características Colorimétricas.

**GRÁFICA 17.- Influencia del Antioxidante en las Características Colorimétricas.**



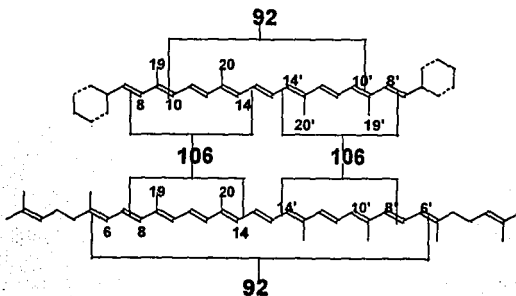
Analizando el conjunto de gráficas anteriores se tiene que el factor de mayor influencia en las características colorimétricas es el uso de antioxidante, razón por la cuál se presenta la gráfica 17 para poder visualizar que el comportamiento en cada caso es muy similar en el transcurso de la experimentación. A la séptima semana se observa una disminución de la influencia ejercida sobre el matiz. La influencia del antioxidante en las otras tres características colorimétricas es casi la misma.

Este análisis de los resultados de las gráficas 1,2,5,6,9,10,13 y 14 (de barras) muestran que el uso de antioxidante así como la temperatura de almacenamiento a refrigeración es favorable, como se ve en los ensayos 6 y 8 por ejemplo. El factor ubicado en tercer lugar es la temperatura de almacenamiento; la de refrigeración mantiene en buen estado al pigmento conforme pasa el tiempo. También se observa en los ensayos que carecen de cualquier factor favorecedor de su conservación, que se degradan en mayor proporción que los demás.

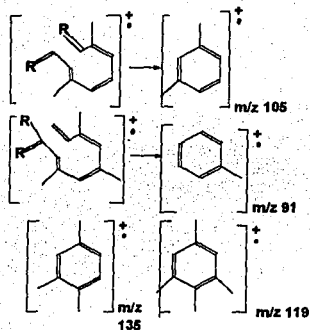
El análisis de los resultados de las gráficas restantes de Tiempo vs. % influencia muestra que en las cuatro características colorimétricas se observa que los factores antioxidante y la interacción antioxidante y temperatura de almacenamiento son los que ejercen una mayor influencia en cualquiera de ellas. Los demás factores e interacciones se comportan de manera semejante entre ellos, ya que la influencia que muestran es de menos de 30 %.

#### ESPECTROMETRÍA DE MASAS.

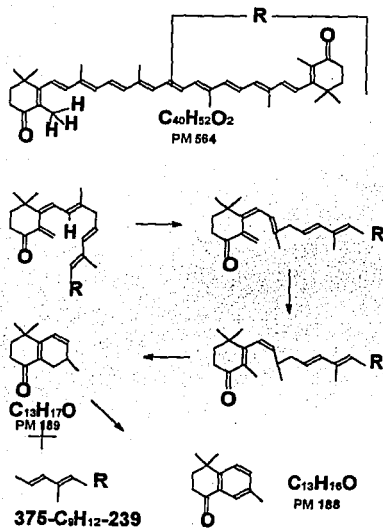
La técnica de espectrometría de masas nos permite entre otras cosas determinar la estructura química en base a los fragmentos ( $m/z$ ) presentes en el espectro. De esta manera y apoyado con los datos de la literatura, se puede mencionar que el colorante presente en el extracto de cabezas de camarón no contiene astaxantina ni cantaxantina, ya que como lo reportan Roshdy<sup>75</sup> ( 1990 ) y Baldas<sup>6</sup>( 1969 ), los fragmentos más importantes encontrados en el espectro de masas del colorante de las cabezas de camarón no corresponden a este; por otro lado los fragmentos presentes muestran una fragmentación típica para  $\beta$ -carotenos ya que se observan picos en 91, 105 y 119<sup>45</sup>.



**FIGURA 4.- FRAGMENTOS CARACTERÍSTICOS DE  $\beta$  CAROTENOS.**



**FIGURA 5.- FRAGMENTACION DE CANTAXANTINA.**



## **Capítulo IV.- CONCLUSIONES.**

### **4.1 EXTRACCIÓN**

- El uso de hexano como disolvente se descarta, debido a que presenta características inconvenientes al estar realizando las extracciones tales como un intenso olor desagradable , además de que el color amarillo pálido extraído es mínimo.

Las extracciones realizadas en tiempos cortos cambiando el disolvente, resultan más eficientes que si fuera en un sólo paso por un largo tiempo, ya que paulatinamente se comienza el arrastre de los compuestos.

- El colesterol se encontró presente en la mezcla obtenida en proporción considerable, lo cual afectó directamente tanto al rendimiento como al agente colorante presente en la misma; eliminando la interferencia del colesterol aumentarían las características colorimétricas.

### **4.2 ESTABILIDAD**

Los cambios degradativos afectan a las características colorimétricas conforme pasa el tiempo, efecto que se retarda con el uso de antioxidante y el almacenamiento a temperatura de refrigeración.

Del estudio de Ingeniería de Calidad se pudo verificar la influencia que ejercen factores tales como uso de antioxidante, presencia de luz y temperatura de almacenamiento, se obtienen que la mayor influencia es debida al uso de antioxidante, seguida de la interacción entre antioxidante y temperatura de almacenamiento. La temperatura de almacenamiento como factor individual de influencia esta colocado en tercer lugar de importancia, seguido finalmente por la presencia de luz, y la interacción de esta con uso de antioxidante y con la temperatura de almacenamiento.





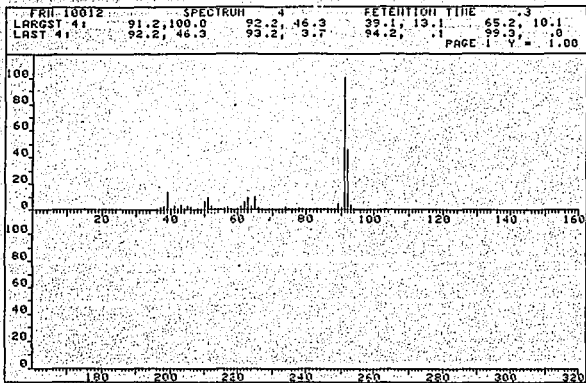
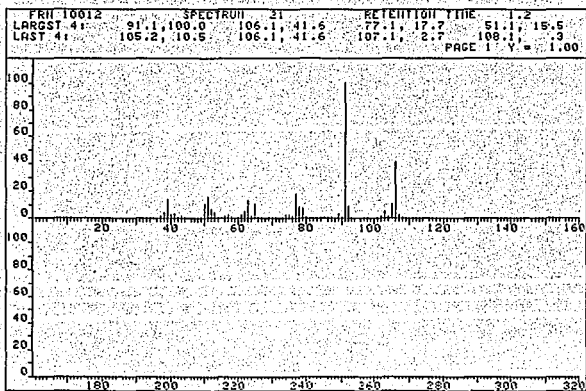


FIG. 6.- Espectro de masas para el pigmento.



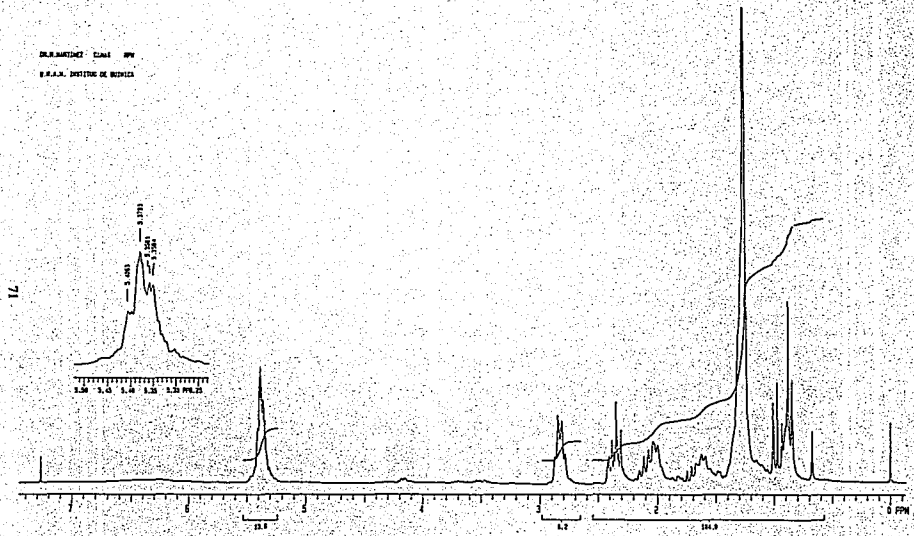


FIG.7.- Resonancia Magnética Nuclear Protónica (RMNP) del pigmento.

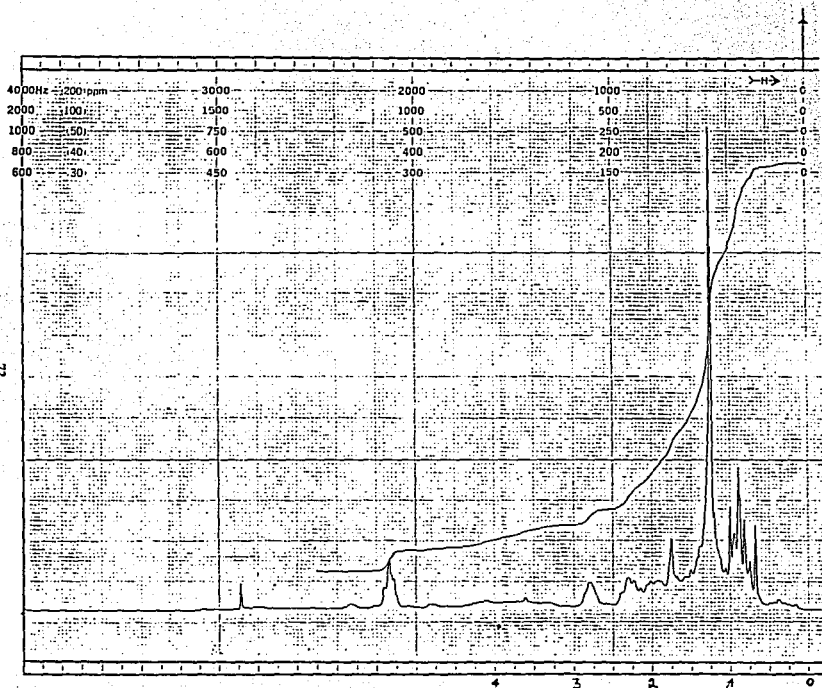


FIG. 8.- Resonancia Magnética Nuclear Protónica (RMNP) para el colesterol.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- 1.- ALAIS, Charles; LINDEN, Guy. " Food Biochemistry ". Ellis Horwood. Van Nostrand Reinhold. New York, 1991. p.12-43.
- 2.- ALCEDO, Miranda D.G. " Alternativas para la industrialización integral del atún y del camarón " Tesis Facultad de Química. Químico Farmacéutico Biólogo. 1988
- 3.- AMOS, A.J. " Manual de industrias de los alimentos ".Edit. Acribia S.A. Zaragoza, España. 1969. p.105-107,129, 343-344, 755-760.
- 4.- AURAND, W. L.; WOODS, A. E. " Food composition and analysis ". AVI Book, Van Nostrand Reinhold. New York. 1987. p. 453-492.
- 5.- BADUI, Dergal S." Química de los alimentos " Edit. Alhambra S.A., México, 1981.
- 6.- BALDAS, J.; PORTER, K. N. " Mass Spectrometry of carotenoid Ketones " Chemical Communications, 1969. 415-416.
- 7.- BAÑUELOS, Morales V. D." Aportación al estudio de extracción de colorante alimenticio del achiote ". Tesis Facultad de Química. Ingeniero Químico. 1982.
- 8.- BELITZ, H. D." Química de los alimentos " Edit. Acribia S.A. Zaragoza, España. 1988. p. 191-209, 359, 363, 507-508.
- 9.- BILLMEYER, W. F.; SALTZMAN, M." Principles of color technology ". Interscience publishers. New York, 1966. p. 36-46
- 10.- BLAISTEN, B. S." Fuentes vegetales de carotenoides para la industria alimenticia ". Tesis Facultad de Química. Químico Farmacéutico Biólogo. 1969. p. 29-60.
- 11.-BLANCARTE, Sofia E." Los recursos pesqueros en el desarrollo nacional. El caso del camarón en México ". Universidad Nacional Autónoma de México. 1979. p. 68-125.

- 12.-BOJORQUEZ, Izquierdo E." Anteproyecto de norma para extracto de cochinilla y carmín/colorante orgánico natural. Aditivo para alimentos " Tesis Facultad de Química. Químico Farmacéutico Biólogo. 1990.
- 13.-BORENSTEIN, B." Canthaxanthin: potential new food color " Food Technology, 21 (3), pp. 13-16 (1967).
- 14.-BORENSTEIN, B." Carotenoids: properties, occurrence and utilization in foods " Advances in food Research, Tomo 15. 1966. Academic Press. p. 195-263.
- 15.-BORGSTROM, George." Fish as food " Academic Press. New York, 1965. p. 117, 432., 562-579.
- 16.-BRAVERMAN, J.B.S." Introducción a la bioquímica de los alimentos " Edit. El Manual Moderno, S.A. México. 1986. p. 207-218.
- 17.- CALISALVO, Durán F. " El mundo animal " UTEHA S.A. de C.V., México. 1992.
- 18.-CASTELLS, J.; CAMPS, F." Elucidación estructural de compuestos orgánicos por métodos espectroscópicos ". Edit. Alhambra S.A. Mexico. 1978.
- 19.-CHEFTEL, J." Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos " Edit. Acribia S.A. Zaragoza, España. 1983. p. 31-45, 137.
- 20.-COFIELD, E.P. " Solvent extraction of oilseed " Chemical Engineering, 58 (1), 1951. p. 127-140.
- 21.-CONSIDINE, M." Foods and food production encyclopedia ".Van Nostrand Reinhold Co. New York, 1982. p. 340-349.
- 22.-COULTATE, T. P." Food. The chemistry of its components ". 2da. edición. Royal Society of Chemistry. Londres, 1990.
- 23.-DESROSIER, N. W." Elementos de Tecnología de alimentos ".7ma. imp. Edit. Continental AVI Publishing Co. 1990. p. 412-414.
- 24.-DE LA HUERTA, Herrera P. " Industrialización de los subproductos del camarón " Tesis Facultad de Química. Químico. 1951

- 25.-ENRIQUEZ, Hernández E." Evaluación de carotenoides como aditivos en la industria alimenticia ". Tesis Facultad de Química. Químico Farmacéutico Biólogo. 1978. p. 4-30.
- 26.-ESPINOZA, Sánchez M." Efectos nocivos de los aditivos colorantes certificados más utilizados en industria de alimentos " . Tesis F.E.S. - Cuautitlán. Ing. en alim. 1993. p. 22-33.
- 27.-ESTRADA, Flores S." Estudio técnico económico para la instalación de una planta de alimento balanceado para camarón cultivado ". Tesis F.E.S.-Cuautitlán. Ing. en Alim. 1991.
- 28.-FARRE, Rovira R."Colorantes: bebidas refrescantes, caramelos y yogures " Tecnología Alimentaria. p.23-36
- 29.-FENEMMA, O." Introducción a la ciencia de los alimentos ". Edit. Reverté. España. 1985.p. 484-494.
- 30.-FLORES, Maldonado J.A." Estudio técnico económico para la instalación de una planta congeladora IQF de pescado y camarón a base de nitrógeno líquido " Tesis Facultad de Química. Ingeniero Químico. 1993. p. 23-40.
- 31.- FRANCIS, G. W. " Mass Spectrometric Studies of Carotenoids " Acta Chemical Scandinavica 23 ( 1969 ). No. 8. 2916-2918.
- 32.-FURIA, E. T." Handbook of food additives ". 2da. ed. CRC Press, Ohio, 1975.
- 33.-GARCIA, Casanova Z." Estudio de la estabilidad del colorante de la cochinilla y aplicación en alimentos " Tesis F.E.S. - Cuautitlán. Ing. en Alimentos 1990.
- 34.-GAMAN, P. M." The science of food ". 3ra ed. Pergamon Press. Oxford, 1990.
- 35.-GONZALEZ, Torres J." Estudio sobre el aprovechamiento de los pescados, mariscos y crustáceos de la República Mexicana y la importancia de una normalización ". Tesis Facultad de Química. Químico Farmacéutico Biólogo. 1978. p. 55, 94-97.

- 36.-GOODWIN, T.W." Plant pigments " Academic Press. New York, 1988.
- 37.-GOTTLIEB, O.; BRAZ, Filho R." Introducción a la espectrometría de masas de sustancias orgánicas ". O. E. A. Washington D.C. 1976.
- 38.-GUEL, Montoya R." Análisis de métodos experimentales para la obtención de carotenos ". Tesis Facultad de Química. Químico. 1979.
- 39.-HALL, W. C.; FARRAL, A. W." Encyclopedia of food engineering ". 2da. edición. AVI Publishing Company. Connecticut, 1973. p. 164-173, 798-800.
- 40.-HELDRICH, K." Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemist ". 15ava. edición. Virginia, 1990.
- 41.-HUI, Y.H." Encyclopedia of food science and technology ". John Wiley and Sons, Inc. New York, 1992.
- 42.-ITAMAR, Ben-Gera; AMIHUD, Kramer." The utilization of food industries wastes " Advances in food Research, Tomo 17. 1969. Academic Press. p. 135.
- 43.-JOSLYN, A. Maynard." Methods in food analysis: physical, chemical and instrumental methods of analysis ".2da. edición. Academic Press. New York, 1970.
- 44.-KHACHIK, F.; WHITTAKER F." Separation, identification and quantification of the major carotenoid and chlorophyll constituents in extracts of several green vegetables by liquid chromatography " J. Agric. Food Chem., (34)-4 1986. p. 604-616.
- 45.- KJOSEN, H; JENSEN, S. " Mass Spectrometric Studies of Carotenoids ". Acta Chemica Scandinavica 25 ( 1971) No. 1.p. 85-93.
- 46.-KIRK, E. R." Enciclopedia de tecnología química ". Editorial Hispanoamericana. México. 1963. p. 107-116,141-151, 423-426, 506-514.
- 47.-LEE, A. Frank." Basic food chemistry " The AVI publishin Company. New York, 1975. p. 161-172.



- 48.-LEES, R." Análisis de los alimentos " Edit. Acribia S.A. Zaragoza, 1982. p. 247-257.
- 49.-LEWIS, J. Richard." Food aditives handbook " Van Nostrand Reinhold. New York, 1989. p. 116, 125.
- 50.-MADRID, A. Vicente." Manual de industrias alimentarias ". 3ra. edición. AMV Ediciones. España. 1991. p. 44-53.
- 51.-MANU-TAWIAH, W. and HARD, N.F." Recovery of caroproteins from exoskeleton of snowcrab *Chionocetes opilio* " Can. J. of Food Sci. and Tech. Vol. 20, p. 31-33.
- 52.-MACKINNEY, G." The color problem in foods ". Advances in food Research, Tomo 5, 1963. Academic Press. p. 331-347.
- 53.-MARTINEZ, Baltazar J." Especies de pescados y mariscos de mayor consumo en el Distrito Federal ". Tesis Facultad de Química. Químico Farmacéutico Biólogo. 1988. p. 17-30, 155-181.
- 54.-MAYNE, Taylor S." Cis-Canthaxanthin and other Carotenoid- like compounds in Canthaxanthin preparations ". American Chemical Society. 1988. p. 67-71.
- 55.-McLAFERTY, F. W." Interpretation of mass spectra ". 3ra. edición. University Science Books. California, 1980.
- 56.-MONROY Navarrete, L. " Obtención de quitosan a partir de la quitina extraída del pleuroncodes planipes (langostilla) ". Tesis Facultad de Química. Químico Fármaco Biólogo. 1979.
- 57.-MULTON, J. L." Aditivos y auxiliares de fabricación en las industrias agroalimentarias " Edit. Acribia S.A. Zaragoza, 1988. p. 3-21, 275-297.
- 58.-NAJERA, Gómez A." Los colorantes naturales en la industria alimentaria " Tesis Facultad de Química., Químico. Fármaco. Biólogo. 1988. p. 28-60.

- 59.-NARANJO, Rodríguez I." Consideraciones sobre hidrólisis y saponificación de aceites y grasas ". Tecnología Alimentaria. Junio de 1989. p. 37-43
- 60.-ORTIZ, G.G. " Evaluación de los desechos de camarón para su aprovechamiento ". ITESM. Sonora. Tecnología Alimentaria. Vol. 21 No. 3. 1986.
- 61.-PAVIA, L. D."Introduction Organic Laboratory Techniques". 2da. edición. CBS College Publishing. E.U.A. 1982.
- 62.-PEARSON, D." Técnicas de laboratorio para análisis de alimentos " Edit. Acribia S.A. Zaragoza, 1986. p. 102-111, 305-316.
- 63.-PELEG, Micha; BAGLEY, B. Edward." Physical properties of foods " AVI Publishing Company Inc., E.U.A. 1983
- 64.-PINELLI,Saavedra, A. " Extracción y utilización de quitina a partir de cáscara de camarón ". Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Sonora.Tecnología Alimentaria. Vol. 23 No.40. 1986
- 65.-POMERANZ, Y." Food analysis: theory and practice ". 2da. edición. Van Nostrand Reinhold. New York, 1987. p. 85-95.
- 66.-POMERANZ, Y." Food analysis laboratory experiments ". 2da. ed. AVI Publishing Co. Inc. New York, 1980. p. 141-149.
- 67.-POTTER, N." Ciencia de los alimentos ". 1ra. ed. Edutex México. 1973. p. 478-.
- 68.-RAMIREZ, Zierold A." Estudio de estabilidad de colorantes cúrcuma y achiote frente a diferentes dosis de radiación gamma ". Tesis Fac. de Quím. Químico Farmacéutico Biólogo. 1992. p. 31-43.
- 69.-REYES, Castañeda P." Bioestadística aplicada ". 2da. edición. Editorial Trillas S.A. México. 1990.
- 70.-REYES, Quiroz R." Evaluación de estabilidad y aplicación de mezcla de colorantes de rojo cochinita y rojo No. 3 ". Tesis F.E.S. - Cuautitlán. Ingeniería en Alimentos. 1991.

- 71.-ROBERTS, Howard R." Sanidad alimentaria ". Edit. Acibia. Zaragoza, 1986. p. 220-227.
- 72.-ROBINSON, David S." Bioquímica y valor nutritivo de los alimentos " Edit. Acibia S.A. Zaragoza, 1991.
- 73.-ROCHA, Quiroz M." Separación de pigmentos carotenoides: alga Spirulina" Tesis Facultad de Química. Ingeniero Químico 1985. p. 15-43.
- 74.-RONIVALLI, J. Louis." Elementary food science ". 3ra. edición. Van Nostrand Reinhold. New York, 1992. p. 266-272, 490-495.
- 75.-ROSHDY, Tarik H." Use GC-MS Technique for identification of oxygenated volatile thermal degradation products of Canthaxanthin " J. Agric. Food Chem.,(38)-6. 1990. p. 1391-1396.
- 76.-ROSS, J. P." Taguchi techniques for quality engineering ". Mc. Graw Hill. Singapore. 1989.
- 77.-SAWAYA, Manzur J." Extracción, caracterización y estabilidad de pigmentos de chile ancho ". Tesis F.E.S. - Cuautitlán. Químico. 1993. p. 32-36.
- 78.-SAWYER, R." Pearson's composition and analysis of foods ". 19na edición. Longman Scientific and Technical. Singapore. 1991.
- 79.-SCHEFLER, C. W." Bioestadística". 1ra, edición. Fondo Educativo Interamericano. México. 1981.
- 80.-SKREDE, G.; STOREBAKKEN, T." Color evaluation in raw, baked and smoked flesh of rainbow trout Onchorhynchus mykiss fed astaxanthin or canthaxanthin " J. Food Sci., Vol. 55, No. 6. 1989. p. 1574-1578.
- 81.-SUAREZ, Del Río G." Aislamiento y estructura de la sustancia colorida de la flor de jacaranda Jacaranda Mimosaefolia ". Tesis Facultad de Química. Químico Farmáco Biólogo. 1991. p. 1-3.

82.-TESORERO, Aguilar M." El enfoque de la Ingeniería de Calidad en procesos alimentarios ". Tesis F.E.S. - Cuautitlán. Ing. en Alimentos. 1992. p. 48-110.

83.-WHITAKER, R. J." Modern Methods of food analysis ". AVI Publishing Company Inc. Connecticut, 1983.

84.-WONG, W.S." Mechanism and theory in food chemistry ". AVI Book, Van Nostrand Reinhold. New York, 1989.

85.-WURTS, Martínez L. D." The role of gas chromatography in the food industry " Tecnol. Aliment., Vol. 18, No. 4. p. 10-12.

86.-ZECHMEISTER, L. " Vitamins and hormones ". AVI Book Van Nostrand Reinhold. New York. 1949.