



UNIVERSIDAD DEL AZUAY

FACULTAD DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA

ESCUELA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

**Desarrollo de un Sistema de Control de Calidad del
Colorante Rojo Cochinilla utilizado en ITALIMENTOS
CIA. LTDA. mediante Espectrofotometría UV**

**Trabajo de graduación previo a la obtención del título de:
INGENIERO EN ALIMENTOS**

Autor:

FABIAN ADALBERTO UYAGUARI MOROCHO

Director:

PIERCOSIMO TRIPALDI

CUENCA, ECUADOR

2017

DEDICATORIA

Dedico esta tesis principalmente a Dios y a la virgen por todas las bendiciones recibidas, la salud y la vida. A mis padres por haber confiado en mí y haber estado presentes en cada etapa de mi vida, siendo el motor e inspiración para alcanzar tan anhelada meta. A mis hermanos que siempre han estado apoyándome en los momentos difíciles. A mis amigos que han sido el pilar fundamental en la vida universitaria. También quiero dedicar esta tesis a todos mis compañeros de trabajo presentes y pasado que compartieron sus conocimientos sin esperar nada a cambio, aquellos que han estado en el día a día durante todo este tiempo.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a todos mis profesores y directivos de la Universidad del Azuay, a la empresa “ITALIMENTOS.CÍA.LTDA” por la oportunidad para mi desarrollo profesional y la ejecución de esta tesis, al Ing. Javier Moscoso, Ing. Juan Manuel Jetón y al Ing. Esteban Quito, por las facilidades para dicho trabajo.

ÍNDICE DE CONTENIDO

Contenido	Pág.
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE DE CONTENIDO	iv
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	2
OBJETIVO GENERAL	2
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	2
CAPITULO I	3
MARCO TEÓRICO	3
1.1 Colorantes.....	3
1.1.1 Historia.....	3
1.1.2 Definición.....	4
1.1.3 Colorante COCHINILLA.....	4
1.2 CROMATOGRAFÍA	16
1.2.1 Definición.....	17

1.2.2	Fundamento.....	17
1.3	ESPECTROFOTOMETRÍA (UV).....	18
1.3.1	Definición.....	18
1.3.2	Fundamento.....	18
1.3.3	Equipo “Espectrofotómetro UV-visible”	19
1.3.4	Región UV	20
1.3.5	Región Visible.....	20
1.3.6	Ley de Beer-Lambert	21
1.4	Gráficas de dispersión	21
1.4.1	Tipos de gráficas de dispersión.....	21
CAPITULO 2.....		23
METODOLOGÍA		23
2.1	Preparación de las diferentes soluciones	23
2.1.1	Preparación de las soluciones hidrosolubles y no hidrosolubles	23
2.1.2	Elaboración de base de cochinilla	24
2.2	Primer control de calidad	25
2.2.1	Cromatografía	25
2.3	Segundo control de calidad.	27
2.4	Tercer método de control	28
2.4.1	Preparación de muestras (embutidos)	29
2.4.2	Preparación de muestras en estado sólido (masas y embutidos).....	30

2.4.3 Pasos para realizar las lecturas de los patrones de masa en el espectrofotómetro	31
CAPITULO 3.....	33
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	33
3.1 Resultados primer control de calidad	33
3.1.1 Resultados de la cromatografía	33
3.2 Resultados segundo control de calidad.....	34
3.2.1 Análisis de la cochinilla hidrosoluble	34
3.2.2 Análisis de la cochinilla no hidrosoluble	37
3.3 Resultados del tercer control de calidad.....	39
3.3.1 Análisis de muestras con concentraciones conocidas.	39
3.3.2 Curva de calibración de las muestras en el espectrofotómetro	39
3.3.3 Resultados de la espectrofotometría de las muestras de producto terminado	41
3.4 Discusión del primer control de calidad.....	45
3.5 Discusión del segundo control de calidad	46
3.6 Discusión del tercer control de calidad	46
3.6.1 Discusión de la muestra de Mortadela Bologña.....	46
3.6.2 Discusión de la muestra de Salchicha tipo Frankfurt.....	46
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	47
BIBLIOGRAFÍA.....	50

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Contenido	Pág.
Gráfico 1.1: Cochinilla.....	6
Gráfica N°1.2 Estructura del Ácido Carmínico.	11
Gráfica N°1.3: Diagrama de niveles de energía en una molécula.	19
Gráfica N° 1.4: Partes del espectrofotómetro.	19
Gráfica N°1.5: Diagrama de Dispersión: Tipos de Relación.	22
Gráfica N°2.1 Formula para determinar RF.....	27
Gráfica N°3.1 Placa de silica gel con cochinilla hidrosoluble.....	33
Gráfica N°3.2 Placa de silica gel con cochinilla no hidrosoluble.....	34
Gráfica N° 3.3 Espectro de absorción de las muestras hidrosolubles en alcohol.	35
Gráfica N°3.4 Curva de calibración muestra hidrosoluble.	36
Gráfica N°3.5 Espectro de absorción de las muestras no hidrosolubles en alcohol. .	37
Gráfica N°3.6 Curva de calibración muestra no hidrosoluble.	38
Gráfica N°3.7 Espectro de absorción de las muestras de patrones de masas leídas a 343nm.....	39
Gráfica N°3.8 Curva de calibración de los patrones del producto.....	40
Gráfica N°3.9 Absorbancia de la mortadela Bologña a 343 nm.	41
Gráfica N° 3.10 Absorbancia de la Salchicha tipo Frankfurt leída a 343nm.....	44

INDICE DE TABLAS

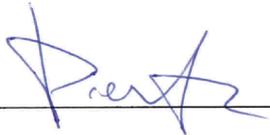
Tabla 1.1 Composición de la cochinilla.....	8
Tabla 1.2: Tabla compuestos del colorante rojo de cochinilla.....	10
Tabla N°1.3 Utilización del Colorante Carmín de Cochinilla.	14
Tabla N°2.1 Sistema de solventes para identificar el ácido carmínico de la cochinilla.	26
Tabla 3.1 Datos obtenidos de patrones de cochinilla hidrosoluble.....	35
Tabla 3.2 Datos obtenidos de muestras de cochinilla no hidrosoluble	38
Tabla 3.3 Datos obtenidos de muestras de masa con rojo de cochinilla.....	40

**DESARROLLO DE UN SISTEMA DE CONTROL DE CALIDAD DEL
COLORANTE ROJO COCHINILLA UTILIZADO EN ITALIMENTOS CIA.
LTDA. MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA UV.**

RESUMEN

El trabajo se desarrolló para la empresa "ITALIMENTOS. CÍA. LTDA". El objetivo, desarrollar un sistema de control de calidad del colorante rojo de cochinilla. En la primera etapa se emplea la cromatografía de capa fina definiendo la calidad de la materia prima; la segunda prueba cuantifica la cantidad de ácido carmínico presente en la materia prima para el colorante, mediante la espectrofotometría UV; el tercer control se realiza en el producto terminado para cuantificar el ácido carmínico presente en el producto luego de los procesos de elaboración, mediante espectrofotometría UV. Los productos analizados fueron mortadela Bologña y salchicha tipo Frankfurt.

Palabras Claves: cochinilla, espectrofotometría, cromatografía de capa fina, ácido carmínico.



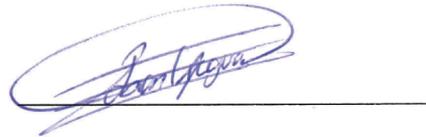
Piercosimo Tripaldi

Director de tesis



Diana Catalina Chalco Quezada

Directora de escuela



Fabián Adalberto Uyaguari Morocho

Autor

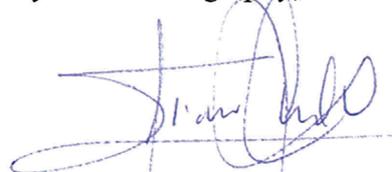
DEVELOPMENT OF A UV SPECTROPHOTOMETRY QUALITY CONTROL SYSTEM OF THE COCHINEAL RED DYE USED IN *ITALIMENTOS CIA. LTDA.* COMPANY.

ABSTRACT

This work was performed for "*ITALIMENTOS. CIA. LTDA*" company. The aim was to develop a quality control system for the cochineal red dye. In the first stage, thin layer chromatography was used to define the quality of the raw material. The second test quantified, through UV spectrophotometry, the amount of carminic acid for the dye present in the raw material, The third control was performed on the finished product to quantify the carminic acid present in the product after the processing. This was done using UV spectrophotometry. The products analyzed were *mortadella* Bolognese and Frankfurt-type sausage.

Keywords: cochineal, spectrophotometry, thin layer chromatography, carminic acid.


Piercosimo Tripaldi
Thesis Director


Diana Catalina Chalco Quezada
School Director


Fabián Adalberto Uyaguari Morocho
Author




Translated by,
Lic. Lourdes Crespo

Uyaguari Morocho Fabián Adalberto

Trabajo de Titulación

Dr. Piercosimo Tripaldi

Mayo, 2017

**DESARROLLO DE UN SISTEMA DE CONTROL DE CALIDAD DEL
COLORANTE ROJO COCHINILLA UTILIZADO EN ITALIMENTOS CIA.
LTDA. MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA UV**

INTRODUCCIÓN

El consumidor medio asocia ciertos colores a ciertos sabores, pudiendo influir el color de la comida en el sabor percibido en todo tipo de productos; por este motivo, la industria alimentaria añade colorantes a sus productos, a veces con el fin de simular un color que es considerado natural, compensar la pérdida de color debida a la luz, el aire, los cambios de temperatura, la humedad y las condiciones de almacenaje, mejorar los colores presentes naturalmente, dar identidad a los alimentos o proteger los sabores y vitaminas del daño ocasionado por la luz. Las variaciones de color de las materias primas, los efectos del procesamiento y almacenaje hacen a menudo ventajoso el uso de colorantes debido a que se mantiene el color esperado o preferido por los consumidores.

De acuerdo a las nuevas reglamentaciones y al control de ciertos colorantes no permitidos para alimentos se ha optado por trabajar con aditivos de origen natural. Estas sustancias obligan a las industrias alimentarias a establecer mecanismos de control que regulen su correcta utilización, para que estos sean admitidos como seguros, deben estar caracterizados químicamente y deben superar los controles de calidad establecidos por parte de los organismos correspondientes. Asimismo se demostrará las ventajas tecnológicas, las mismas que pueden ser: aumentar la estabilidad de un alimento, mejorar sus propiedades organolépticas o incrementar su valor nutricional.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Implementar en las instalaciones de ITALALIMENTOS CÍA. LTDA. el control de calidad del colorante natural cochinilla utilizado en la elaboración de productos cárnicos, mediante espectrofotómetro UV-Visible.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Cuantificar la pureza de los insumos utilizados en las soluciones de cochinilla.
- Identificar las causas de inestabilidad de las soluciones de cochinilla.
- Estandarizar los lotes de solución de cochinilla producidos.
- Controlar la concentración de cochinilla manteniendo el valor adecuado en cada uno de los lotes producidos de mortadela Bologña y salchicha tipo Frankfurt.

CAPITULO I

MARCO TEÓRICO

1.1 Colorantes

1.1.1 Historia

Los colorantes se han utilizado desde el inicio de la civilización, pues el ser humano empezó a incluirlos en sus actividades diarias, siendo obtenidos de forma natural de los animales, plantas y minerales. Dentro de los alimentos hay dos ejemplos claros: el primero es en la producción de los vinos pues el hombre utilizaba bayas de arándanos para lograr una coloración organolépticamente agradable; el segundo es el reverdecimiento de las verduras, estos ejemplos ya se los conocía en el siglo I (Moral, 2000). Las sustancias mayormente empleadas fueron la cúrcuma, índigo natural, la cochinilla, etc.

Hasta mitad del siglo XVIII los colorantes usados en la producción de alimentos eran de origen natural, “en los años 1771 Woulfe logra obtener el ácido pírico preparado mediante la acción del ácido nítrico sobre el índigo”, y tiempo después se añadieron nuevos colorantes como el color púrpura por oxidación de la anilina con ácido crómico (Delgado & Pérez, 2006).

Si bien los colorantes no intervienen en la conservación ni en la parte nutricional, su uso se debe a que el consumidor asocia el color con calidad y es el aspecto más influyente en el momento de elegir y comprar los alimentos, sin dejar al lado que otro aspecto importante es la relación del color con el sabor, pues el consumidor espera que mientras más atractivos se vean los productos estos tendrán mejor sabor. “Los colorantes pueden ser naturales, si son extraídos de una sustancia vegetal, animal o mineral, o sintéticos, si son productos modificados química o físicamente” (Sánchez, 2013).

Sánchez (2013) indica que “Actualmente los colorantes son el grupo de aditivos en el que mayores diferencias se encuentran en las legislaciones entre distintos países; en algunos, como los países nórdicos, prácticamente no pueden utilizarse, mientras que en el Reino Unido se utilizan algunos que no están autorizados en casi ningún otro país de la Unión Europea. También existen diferencias notables entre los colorantes autorizados en Estados Unidos y en la Unión Europea, lo que dificulta ocasionalmente el comercio internacional de algunos alimentos elaborados.”

El uso de colorantes no está permitido en carnes, aves de corral y caza, así como en sus preparados, excluyendo platos preparados que contengan dichos ingredientes, por ejemplo un guiso de carne. Esta prohibición es de modo general, ya que existen disposiciones específicas que permiten el uso de colorantes en determinados productos cárnicos. En la elaboración de embutidos picados crudos se permite el empleo de curcumina a una dosis máxima de 20 mg/kg, en la de embutidos picados curados y en los cocidos se puede usar cochinilla, ácido carmínico o carmines a una dosis máxima de 100 mg/kg (De, Serrano, & Orts, 2000).

1.1.2 Definición

Se define a los colorantes como aditivo para recuperar el color, acentuar el color original, o dotarle de un color más atractivo a los alimentos que perdieron su coloración tras procesos industriales. Además, algunos autores afirman que los colorantes poseen actividades antioxidantes.

1.1.3 Colorante COCHINILLA

“La cochinilla es un insecto fitófago del orden homóptera, familia Dactylopiidae, pertenece al género *Dactylopius*, vive sobre cactáceas de los géneros *Opuntia* y *Nopalea* y su interés se debe a que contiene ácido carmínico en su cuerpo, por lo que es cultivado para la obtención de carmín comercial” (Gómez, 2006).

El colorante natural que se extrae de la cochinilla, contiene dos sustancias: el carmín y el ácido carmínico, los cuales son utilizados para diferentes fines en la industria.

Actualmente, el uso principal de la cochinilla es en la modalidad de carmín, el cual es un producto versátil de gran valor para muchas industrias, como por ejemplo en la farmacéutica, cosmética y alimentaria.

Se dice que este colorante es originario de México, Centroamérica y países andinos del occidente de sur América, pero hoy en día ha sido introducida y naturalizada en el resto de regiones tropicales y sub tropicales.

La comercialización importante de este insecto terminó en 1875, cuando se introdujeron al mercado los colorantes sintéticos. A inicios de la década de 1970 la demanda de cochinilla aumentó debido a la prohibición de algunos colorantes químicos artificiales que producen efectos cancerígenos por lo que la utilización del carmín está recomendada por la mayoría de las legislaciones alimentarias en diversos países; por ejemplo, lo incluye la Food and Drug Administration (FDA) de Estados Unidos de América; la Unión Europea le ha otorgado el código de identificación E-120 y también está incluido en el listado del Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) (FAO/OMS, 2000) (Instituto Boliviano de Comercio Exterior, 2009).

En la actualidad este colorante ha tomado mucha importancia debido a los diversos usos en las industrias farmacéuticas, cosméticas y alimenticias. Esto debido a las restricciones globales en cuanto al uso de colorantes artificiales, sobre todo en lo que respecta en la industria alimenticia y productos de consumo.

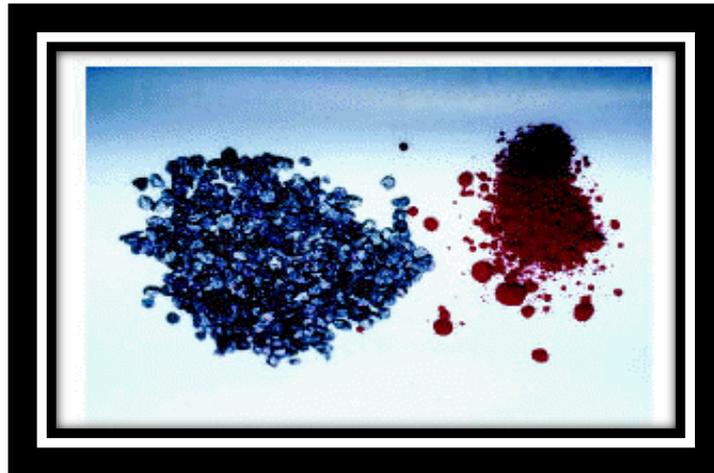


Gráfico 1.1: Cochinilla
Fuente: (Tabar et al., 2003)

Gómez (2006) indica que los insectos de cochinilla son un tanto ovalados, de 3.5-5.5 mm de longitud. La cara es convexa dorsal muestra de 9 a 11 segmentos, pero no hay contracciones entre la cabeza, el tórax y el abdomen. La cochinilla *Dactylopius coccus* se distingue fácilmente de la grana corriente por el color rojo característico y además de que no contiene mucho algodón como la corriente. El insecto tiene un par de antenas de siete artejos y tres pares de patas muy poco aparentes. La superficie del cuerpo está provista de glándulas tubulares que segregan cera, cuya fusión por calor influye en la diferencia de color por la concentración del ácido carmínico entre las que se encuentra: grana jaspeada o plateada, y grana negra.

Se instala como parásito en las hojas de la tuna, su alimentación es tipo fitófago, se nutre de la savia a través de un estilete bucal por medio de largas trompas, cuando son separadas de su huésped original no vuelven jamás a adherirse. También, necesitan de un clima seco y cálido para desarrollarse (Ortega Cifuentes, 2011).

La Cochinilla hembra es la utilizada como materia prima para la elaboración del colorante rojo natural, llamado comercialmente Carmín de Cochinilla E 120, ya que contiene 19 a 24% ácido carmínico (peso seco) en su cuerpo, untuoso como

sustancia de reserva. De esta manera estudios indica que se necesita 40000 hembras para producir 1Kg de carmín (Olea & López, 2012) .

La hembra vive alrededor de 150 días desde la postura del huevo hasta llegar a edad adulta, lo que no sucede con el macho pues este es relativamente más pequeño que la hembra, presenta un par de alas, antenas bien desarrolladas y patas delgadas que ayudada por sus alas y el viento, vuelan de una planta a otra, para cumplir con su papel de fecundar y solo vive tres días (León, 2005).

El ciclo de fecundación depende la alimentación que los insectos obtengan de la savia de la tuna que le permitirá encontrar su supervivencia y preservación de la especie en diferentes condiciones ambientales (Olea & López, 2012) .

La fecundación se da en todo el año y se dice que por cada insecto macho existe aproximadamente de 150 a 200 hembras, las cuales después de fecundar depositan entre 400 a 600 huevecillos y luego excretan una sustancia blanca cerosa que cubre totalmente a estos huevecillos, de esta manera logran crear una placa protectora contra el sol y las lluvias (Olea & López, 2012) .

Los huevos son ovalados de superficie lisa y lustrosa semitransparente al estado inicial, presenta un color rojo vivo a morado lila, su tamaño varía de acuerdo al piso ecológico de hábitat, siendo de 1 mm de longitud por 0.5 mm de ancho (Ortega Cifuentes, 2011).

Las hembras ovipositan exactamente a los 132 días como promedio en cualquier estación del año por ser acíclicos, la postura dura 15 días como promedio. La reproducción es por partenogénesis, demostrado en dos generaciones. Los huevos eclosionan cada 10 a 15 minutos dando lugar a "larvas migrantes", en número de 400 individuos migran durante 3 días en busca de un lugar adecuado, luego se fijan temporalmente en los cladiolos, o pencas mientras los otros se fijan junto a su madre, por un período de 32 a 35 días (León, 2005).

El sistema inmune de la cochinilla ha sido poco estudiado, sin embargo existen teorías en las que propone que el ácido carmínico presente en la hemolinfa realiza el papel de agente defensivo del insecto (León, 2005) .

1.1.3.1 COMPOSICIÓN DE LA COCHINILLA

Análisis realizados en la grana cochinilla (*Dactylopius coccus costa*) indican en porcentaje su composición química.

Tabla 1.1: Composición de la cochinilla

Proteína	32,27%
grasas (lípidos)	1,59%
Carbohidratos	20%
Cenizas	11,03%
fibra cruda	9,28%
extracto libre de nitrógeno	45,73%

Fuente: (Gómez, 2006).

1.1.3.2 PROPIEDADES DEL ÁCIDO CARMÍNICO

El ácido carmínico es un polvo impalpable de color pardo rojizo oscuro o rojo brillante, soluble en agua, alcohol y bases; su coloración en diferentes soluciones acuosas varía con el pH, ya que está comprobado que a pH 4,8 presenta una coloración roja amarillenta (naranja), lo que no sucede a pH neutro pues presenta un color rojo

magenta y a pH alcalino un color rojo azulado o violeta; se cristaliza en prismas rojos y se descompone a 120°C (Gómez, 2006).

Aunque existen en el mercado otros pigmentos naturales como la bixina, pero la ventaja que presenta el carmín de cochinilla ante estos colorantes está en sus características químicas, su costo y la gama de colores que se pueden obtener de él, que va desde el rojo carmín hasta un púrpura azulado, lo cual depende únicamente del ion metálico con el que se le haga reaccionar (Agreda, 2009).

El principio activo de la cochinilla es el carmín. El extracto de cochinilla se obtiene por extracción hidroalcohólica de la cochinilla, que son los cuerpos desecados de un insecto (femenino) *Coccus Cacti*. El colorante principal del extracto es el ácido carmínico y su estructura química corresponde a una antraquinona. El carmín es una laca de hidróxido de aluminio o aluminio y calcio y contiene aproximadamente un 50% de ácido carmínico (Olea & López, 2012).

Presenta la ventaja de ser resistente al calor y a la oxidación química en comparación con otros colorantes sintéticos, es un producto estable ya que no se detectan variaciones en productos almacenados durante 4 años, su principal ventaja radica en su enorme poder colorante que supera a cualquier otro (Gómez, 2006).

Este colorante está incluido en la mayoría de las farmacopeas oficiales, también es admitido por las legislaciones de todos los países del mundo para ser empleados en las industrias de alimentos o cosméticos (Morales, 2000).

En lo que respecta a su inocuidad, el carmín no ha podido aún ser desplazado por los colorantes sintéticos, a pesar de los gigantescos adelantos de la química moderna. El carmín es utilizado como pigmento o como colorante. Cuando se emplea como pigmento (líquido) su método de coloración es directamente proporcional a su pureza. En cambio, cuando se le emplea como colorante (sólido) su método de coloración es por dispersión (distribución del color a lo largo de todo el material a ser coloreado) y la fuerza de coloración no es proporcional a su pureza (Ortega, 2011).

El ácido carmínico y el extracto de cochinilla deben ser pasteurizados o tratados para destruir todos los micro organismos de la salmonella (IBCE, 2009).

Tabla 1.2: Tabla compuestos del colorante rojo de cochinilla.

Materia volátil (a 1350C por 3 horas)	no más del 20%
Ceniza	no más de 12%
Plomo	no más de 10 ppm
Arsénico	no más de 1 ppm
Ácido carmínico	no menos del 50%

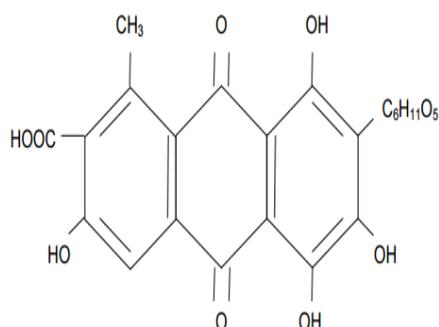
Fuente: (Instituto Bolivariano de Comercio Exterior, 2009).

Según Moral (2000) el carmín y el extracto de cochinilla pueden ser usados de forma segura para dar color a los alimentos generalmente en cantidades consistentes con las buenas prácticas manufactureras, excepto que no pueden ser usados para dar color a los alimentos para los cuales los estándares de identidad no lo hayan autorizado.

El nombre químico de la cochinilla es: Ácido 7 - β - D- glucopiranosil-3, 5,6, 8-tetrahidroxi-1-metil-9,10- dioxoantraceno-2-carboxilixio (ácido carmínico), (ORTEGA, 2011).

1.1.3.3 ESTRUCTURA DEL ÁCIDO CARMÍNICO

El ácido carmínico es de fórmula $C_{22}H_{20}O_{13}$, el grupo carboxílico $-COOH$ y los cuatro grupos $-OH$ fenólicos, de las posiciones C-3, C-5, C-6 y C-8 desprotonables, contribuyen a los cambios de color y pH del ácido carmínico; anaranjado a pH = 3.0, rojo a pH = 5.5 y púrpura a pH = 7.0 (Agreda, 2009).



Gráfica N°1.2 Estructura del Ácido Carmínico.

Fuente: (Agreda, M. 2009 cita a Bhatta y Venkataraman, 1965).

1.1.3.4 OBTENCIÓN DEL ÁCIDO CARMÍNICO

El ácido carmínico es extraído de la cochinilla mediante extracción acuosa, partiendo de esta el ácido carmínico es precipitado como un complejo metálico; este complejo es separado y dispersado en agua o alcohol; para luego ser tratado y de esta manera dejar en libertad el ácido carmínico, y mediante filtración y concentración para lograr la cristalización del ácido carmínico (León, 2005).

Gómez (2006) indica “que cristaliza en alcoholes como prismas rojos, su punto de fusión no es claro, oscurece a 120° y tiene RF 0.17 en 1-propanol : amoniaco y 0.12 en 1-butanol : piridina : H_2O . También presenta una coloración rojo profundo en agua y un color amarillo a rojo en soluciones ácidas. Además, es ligeramente soluble en éter y prácticamente insoluble en éter de petróleo, benceno y cloroformo”(Gómez, 2006)

1.1.3.5 DERIVADOS DE LA COCHINILLA

En la industria los extractos de cochinilla son colorantes naturales de color rojo, que en su composición contienen principalmente ácido carmínico y se puede obtener por extracción con agua o alcohol. Estos extractos se utilizan para la preparación de concentrados líquidos o en polvos de ácido carmínico, los cuales son empleados para dar un color fresa a los alimentos.

De la cochinilla se pueden obtener una diversidad de productos, según sean los procesos al que sea sometido. La utilización más simple son los cuerpos disecados de los insectos, conocido como grana, y que se produce un líquido rojizo empleado en la tinción de textiles. Luego se pueden encontrar extractos, de los cuales los más demandados son el extracto alcohólico, el ácido carmínico para la elaboración de alimentos y las alúminas (Agreda, 2009).

Según el Instituto Bolivariano de Comercio Exterior (2009) de la cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa), se pueden obtener los siguientes productos:

- Cera.
- Extracto acuoso colorante de cochinilla.
- Extracto alcohólico colorante de cochinilla.
- Extracto acuoso colorante de cochinilla, este colorante es estable a los ácidos de frutas.
- Extracto colorante de cochinilla, libre de sodio y potasio, estable a los ácidos de frutas.
- Ácido carmínico en cristales.
- Ácido carmínico en solución acuosa, estable a los ácidos de frutas.
- Ácido carmínico soluble en aceites y grasas comestibles.
- Carmínato de calcio, "carmín negro".
- Carmín de cochinilla en diferentes concentraciones de ácido carmínico.
- Solución de la laca Carmín, al 4% de ácido carmínico.
- Solución acuosa de la laca carmín, libre de sodio y potasio.

- Laca carmín en polvo, hidrosoluble.
- Laca carmín en polvo, hidrosoluble libre de sodio y potasio.

1.1.3.6 USO EN LA INDUSTRIA

Las calidades de cochinilla que se pueden expender: "premium", de primera y de segunda, se establecen a partir del contenido de ácido carmínico: 22.5%, 19.5% y 10% respectivamente.

El consumidor de embutidos está acostumbrado a utilizar productos de cierta tonalidad de rojo; motivo por el cual el carmín es preferido en las industrias por su estabilidad en el tiempo y a los cambios de pH. Es así, que en la industria cárnica se emplea carmín para colorear sus embutidos cuando utiliza carne de cerdo, pollo y res; además, es utilizado para teñir las tripas. Cuando el embutido es hervido por el consumidor se utiliza carmín en polvo. En Francia las industrias suelen agregar en forma de sal colorante.

Puede utilizarse como un barniz insoluble para proporcionar el aspecto rojizo de la superficie externa del sucedáneo de carne de cangrejo (surimi) o en forma hidrosoluble en bebidas como el Campari, en zumos de frutas, productos lácteos como el yogur, helados o confituras; en general, cualquier producto que deba tener una tonalidad rojo fresa (Tabar et al., 2003).

También puede añadirse a la bollería y a productos farmacéuticos o textiles. En la industria cosmética este colorante se ha utilizado en la elaboración de lápiz labial, polvos faciales y debido a la calidad que exige esta industria solo acepta carmín de alta pureza, que coincida en tonalidad con sus patrones de calidad y color (IBCE, 2009).

Según el Instituto Bolivariano de Comercio Exterior (2009) en la industria alimentaria se utiliza el 75% de producción de carmín de cochinilla, el resto se

distribuye a la industria cosmética un 15% y el 10% restante va a la industria farmacéutica.

En la Unión Europea el carmín y el extracto de cochinilla deben etiquetarse E120 e internacionalmente se conocen como colorante rojo natural n° 4. La OMS ha establecido un límite de consumo diario de 5 mg/kg/día (Tabar et al., 2003).

El colorante carmín se utiliza de varias maneras dependiendo de la coloración, solubilidad y características de estabilidad deseadas. A continuación se describirá un cuadro en el que se clasifica los productos según la procedencia del colorante cochinilla.

Tabla N°1.3 Utilización del Colorante Carmín de Cochinilla

Preparados de carmín insolubles en agua	Preparados de carmín	Extracto de cochinilla Hidrosolubles
Cosméticos	Productos cárnicos	Bebidas
Medicamentos	Embutidos	Yogures
Derivados lácteos	Helados	Helados
Bollería	Yogures	Conservas de frutas
Confituras	Conservas de frutas	Confites
	Bebidas, licores	Pudins
	Confituras, mermeladas	
	Caramelos y chicles	
	Bollería y galletas	
	Cosméticos	
	Medicamentos	

Fuente: (Tabar et al., 2003).

1.1.3.7 TOXICOLOGÍA DE LA COCHINILLA

Los colorantes se dividen de forma general en naturales y sintéticos, según su procedencia. Los tintes reactivos pertenecen al grupo de los colorantes sintéticos, y son los principales agentes implicados en enfermedades. Los colorantes naturales también son ampliamente utilizados y a pesar de que son habitualmente bien

tolerados, en los últimos años ha aparecido un número creciente de reacciones alérgicas causadas por el colorante carmín (Tabar et al., 2003).

Según las organizaciones que protegen la salud del consumidor los colorantes naturales presentan la ventaja de no causar daño, sin embargo, un estudio realizado por el Instituto Boliviano de Comercio Exterior en el 2003 demuestran que aunque estos colorantes se consideran generalmente inocuos para el ser humano, cada vez se describen con más frecuencia reacciones de hipersensibilidad frente a los mismos (Instituto Boliviano de Comercio Exterior, 2009).

Además, científicos afirman que al tratarse de un colorante ampliamente utilizado como aditivo alimentario, como excipiente farmacéutico y en la composición de numerosos cosméticos, no sería extraño que con el tiempo se presentaran reacciones alérgicas ya sea por ingerir o por contacto directo a la piel (Chung et al., 2001)..

Beaudouin, Kanny, y Lambert, (1995) publicaron el primer caso de reacción anafiláctica causada por el consumo de un yogur coloreado con carmín, este caso describía un paciente que tenía pruebas cutáneas positivas con un extracto de carmín y con el propio yogur, e hicieron una estimación acerca de la cantidad de colorante ingerida por el paciente dando una cantidad de 1,3mg.

Baldwin, Chou, y Solomon, (1997) describieron el caso de una paciente que había presentado un episodio de anafilaxia tras la ingestión de un helado que contenía carmín. Tras practicar las pruebas cutáneas estas resultaron positivas.

En el 2001 Chung et al. indicaron que 3 mujeres de edades comprendidas entre 27 y 32 años presentaban reacciones alérgicas (urticaria, angiodema y/o anafilaxia) por la ingestión de alimentos que contenían carmín (surimi, zumos). Al realizar los análisis en los 3 casos las pruebas cutáneas con carmín fueron positivas y en dos casos se confirmó la alergia al carmín mediante provocaciones orales.

Un estudio realizado en una fábrica de colorantes naturales tras diagnosticar que dos de sus trabajadores presentaban asma ocupacional, evaluaron la sensibilización y la existencia de asma ocupacional por carmín, revelando los siguientes datos 48,1% y 18,5% respectivamente, lo que comprueba que nos encontramos ante un nuevo alérgeno y que si no se toman las medidas necesarias, los consumidores sufrirán múltiples problemas en su salud (Tabar et al., 2003).

Tabar y otros (2003) explican que el asma ocupacional causada por inhalación de carmín debe considerarse como un ejemplo más de la capacidad que tienen ciertas partículas proteicas de artrópodos (en este caso las cochinillas) de actuar como aeroalérgenos; además, evaluaron la frecuencia de casos de reacciones alérgicas (urticaria, angiodema y anafilaxia), causadas por ingestión de alimentos coloreados por carmín; donde se determinó que su causa se debería probablemente a proteínas de las cochinillas que están presentes en su producto derivado, de esta manera se comprueba la teoría que los colorantes naturales comparten su naturaleza orgánica, bien sea animal o vegetal, y tienen en su composición cierta cantidad de material proteico, por lo que podrían actuar como antígenos potenciales.

Es conclusión, estos estudios revelan que el colorante cochinilla es un alérgeno que puede actuar tanto por vía inhalatoria como digestiva, dando lugar a un síndrome alérgico, el mismo que puede presentarse con manifestaciones tanto de alergia respiratoria como alimentaria (Tabar et al., 2003).

1.2 CROMATOGRAFÍA

1.2.1 Definición

Muchos autores definen a la palabra cromatografía como gráfica de colores, dicha técnica tiene su inicio a principios del siglo XX, en 1906 cuando el botánico químico ruso Michael Tswett, quién vertió un extracto de vegetales en un tubo de ensayo que contenía carbonato cálcico pulverizado y posteriormente al adicionar disolvente pudo observar que los pigmentos coloreados se separaban. A partir de este suceso la cromatografía quedó prácticamente olvidada hasta 1930 cuando Kuhn y Lederer, volvieron a usar la técnica para lograr la separación de carotenoides; desde este momento el uso de esta técnica fue aplicándose con mayor frecuencia a muchos campos.

Es así, que de ahí se origina su nombre “cromatos” (del griego, color), que engloban una serie de técnicas y que poseen los mismos principios; cada técnica posee una fase estacionaria y otra llamada móvil, se trata de una técnica o método físico de separación de dos o más solutos presentes en una mezcla basada en la velocidad de desplazamiento de los mismos. Esta técnica es efectiva y es utilizada tanto a nivel de laboratorio como a nivel industrial.

1.2.2 Fundamento

Su fundamento es la separación de los componentes de mezclas en base a la diferencia de propiedades físicas de aquellos. Son técnicas analíticas de separación de materiales que utilizan la distribución de las sustancias entre dos fases, una móvil y otra estacionaria. La primera, también conocida como eluyente, de naturaleza líquida o gaseosa tiene como misión arrastrar las sustancias a través de la fase fija, en la estacionaria o fija se verifica la separación de la mezcla.

Tomando en cuenta la naturaleza de las dos fases se puede hablar de diversos tipos de cromatografía: líquido-líquido, filtración en gel, líquida de alta presión o HPLC, capa fina, gaseosa, cromatografía en papel, intercambio iónico, etc.

Cuando una especie química se distribuye entre dos fases, a este fenómeno se le denomina reparto. Cuando la muestra está formada por multicomponentes y el reparto es muy diferente entre las dos fases consideradas, se habla de extracción, si está más equilibrado se denomina fraccionamiento (Herrera, Bolaños, & Lutz, 2003)

1.3 ESPECTROFOTOMETRÍA (UV)

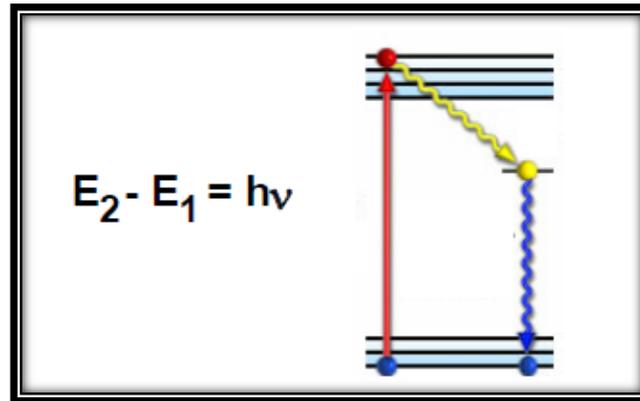
1.3.1 Definición

La espectrofotometría estudia los fenómenos de interacción de la luz con la materia. En general, cuando una lámpara ilumina cualquier objeto, pueden suceder algunos fenómenos: la luz puede ser emitida, reflejada, transmitida o absorbida. Desde que sabemos que la energía no puede ser destruida, la cantidad total de luz debe ser igual al 100%; por lo tanto, cuando un objeto es iluminado, se puede medir cuánta radiación ha sido reflejada o transmitida y podemos decir entonces cuánta fue absorbida y cuál es la cantidad que ha interactuado con el objeto (Abril Díaz et al., 2004).

1.3.2 Fundamento

El fundamento del espectrofotómetro se da por la capacidad de las moléculas de absorber radiaciones, específicamente las que se encuentran dentro del espectro UV-visible. La eficiencia con la que se puede absorber las ondas de radiaciones dependen de la estructura de la molécula y las condiciones en las que se encuentra, “por lo que dicha técnica constituye un valioso instrumento para la determinación y caracterización de biomolecular” (Abril Díaz, y otros, 2004).

La absorción de energía luminosa hace que la molécula pase desde un estado fundamental (E1) a otro excitado (E2). Posteriormente la molécula relaja su energía mediante distintos mecanismos (vibración, rotación, etc) (Abril Díaz, y otros, 2004).



Gráfica N°1.3: Diagrama de niveles de energía en una molécula.
Fuente (Abril Díaz et al., 2005).

1.3.3 Equipo “Espectrofotómetro UV-visible”

Para realizar la medición de la absorción se emplea el espectrofotómetro que consta de lo siguiente:



Gráfica N° 1.4: Partes del espectrofotómetro.
Fuente (Abril Díaz et al., 2005).

En la gráfica N°1.5 se aprecia los componentes que forman un espectrofotómetro UV desde la fuente luminosa que puede ser una lámpara, el primas que va a dispersar la luz que ingresa, las rendijas de entrada y salida que guían la luz, el espacio donde se coloca la muestra y por último el detector de la cantidad de luz al final.

1.3.4 Región UV

Es la región que se utiliza para los análisis cuantitativos y cualitativos de sustancias orgánicas. “La región UV se define como el rango de longitudes de onda de 195 a 400nm, es una región de energía muy alta y provoca daño al ojo humano así como quemadura común” (Abril Díaz et al., 2005).

Al momento de realizar las correspondientes lecturas de las muestras se debe tener en cuenta el pH, concentración y disolvente, para en su momento corregir los movimientos que tienen los espectros UV. “La fuente de radiación ultravioleta es una lámpara de deuterio” (Abril Díaz et al., 2005).

1.3.5 Región Visible

En esta región se puede observar el color de la muestra, “que corresponde a las longitudes de onda de luz que trasmite, no que absorbe. El color que absorbe es el complementario del color que trasmite” (Abril Díaz et al., 2005).

Abril Díaz, y otros en el 2004: nos indican que, para realizar mediciones de absorción es necesario utilizar la longitud de onda en la que absorbe luz la solución coloreada. La fuente de radiación visible suele ser una lámpara de tungsteno y no proporciona suficiente energía por debajo de 320 nm.

Tabla N°1.4 Color de luz que absorbe y refleja en una longitud de onda.

longitud de onda aproximada	color de luz que se absorbe	color de luz que se refleja o ve
390 - 435	Violeta	Amarillo verdoso
435 - 490	Azul	Amarillo
490 - 580	Verde	Rojo
580 - 595	Amarillo	Azul
595 - 650	Naranja	Azul verdoso
650 - 780	Rojo	Verde azulado

Fuente (Abril Díaz et al., 2005).

1.3.6 Ley de Beer-Lambert

La ley de Beer-Lambert expresa la relación entre la absorción de luz monocromática (de longitud de onda fija) y concentración de un cromóforo en solución:

$$A = \log \frac{l}{l_0} = \varepsilon \cdot c \cdot l$$

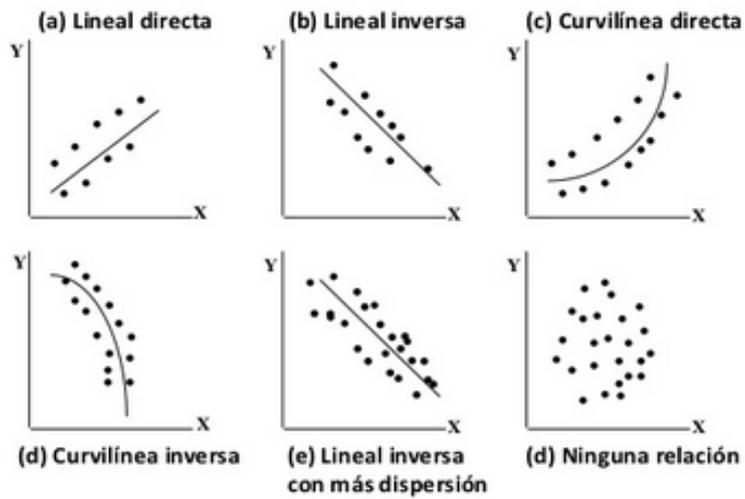
La absorbancia de una solución es directamente proporcional a su concentración a mayor número de moléculas mayor interacción de la luz con ellas; también dependen de la distancia que recorre la luz por la solución a igual concentración, cuanto mayor distancia recorre la luz por la muestra más moléculas se encontrará; y por último depende de E, una constante de proporcionalidad denominada coeficiente de extinción; que es especificada de cada cromóforo.

1.4 Gráficas de dispersión

La gráfica de alta correlación positiva que se observa en la gráfica N°1.6 ayuda a analizar la relación que existe entre dos o más variables, facilitando la interpretación de los datos obtenidos en la lectura de la muestra dentro del espectrofotómetro. Se puede determinar si existe alguna correlación entre las variables a analizar, de esta forma podemos tener diferentes tipos de gráficas a visualizar.

1.4.1 Tipos de gráficas de dispersión

Las gráficas de dispersión se pueden presentar en diferentes formas como se puede observar en la gráfica N°1.6.



Gráfica N°1.5: Diagrama de Dispersión: Tipos de Relación.
Fuente: (Zarlenin, 2011)

En la gráfica N°1.5 se puede observar los diferentes tipos de gráficas de dispersión que se pueden tener, dependiendo de los datos obtenidos.

CAPITULO 2

METODOLOGÍA

Para los parámetros de control de calidad de “colorante rojo cochinilla” dentro de la empresa “ITALIMENTOS. CIA. LTDA.”, se realizaron tres controles de calidad, el primero se enfoca en la aprobación del colorante al llegar a la empresa, utilizando la cromatografía de capa fina, el segundo control de calidad se realizó a las dos materias primas de la solución de cochinilla utilizando la espectrofotometría UV, el tercer método de control de calidad se efectuó en el producto terminado utilizando la espectrofotometría UV. Mediante estos procesos se puede cumplir con el objetivo general propuesto.

2.1 Preparación de las diferentes soluciones

Se debe tener en cuenta que en el momento de realizar los diferentes controles de calidad las muestras tienen que estar en estado líquido, para ello se realizó el siguiente procedimiento.

2.2.1 Preparación de las soluciones hidrosolubles y no hidrosolubles

- Paso 1. - Para preparar las soluciones utilizamos 10 gramos de cochinilla hidrosoluble y no hidrosoluble por separado y los aforamos con 100 mililitros de metanol al 70 % de riqueza.
- Paso 2. - Las soluciones homogenizadas se procede a separar con papel filtro fino.
- Paso 3. - El resultado de la filtración se lo procede a diluir en un 50%, se utiliza como diluyente metanol.
- Paso 4. - Los patrones son preparados a concentraciones de 10, 20, 30, 40, 50, 60 y 70 ppm con agua destilada.

2.2.2 Elaboración de base de cochinilla

Dentro de la empresa el colorante rojo de cochinilla que se adiciona a los productos, se lo prepara mezclando los siguientes compuestos:

- Cochinilla hidrosoluble.
- Cochinilla no hidrosoluble.
- Amoniaco.
- Agua.

Debido a la prohibición de divulgar las fórmulas de la fábrica, para esta tesis se preparó al colorante de una forma muy parecida a la que ellos utilizan, la que consta de los siguientes pesos:

- 3 Kg de cochinilla hidrosoluble.
- 3 Kg de cochinilla no hidrosoluble.
- 900 g de amoniaco.
- 150 Kg de agua.

La mezcla será utilizada para elaborar los diferentes tipos de patrones a emplearse para la lectura en el espectrofotómetro. También se ocupó para elaborar unas muestras de salchicha tipo Frankfurt y mortadela Bologña, las mismas que servirán para validar el método y posteriormente ser aplicado dentro del área de calidad de la empresa ITALIMENTOS CIA. LTDA.

2.2.2.1 Proceso para la elaboración de solución de cochinilla

Dentro de la empresa al momento de formular y elaborar la base de cochinilla se realiza el siguiente proceso:

- Verificación de concentración de las materias primas:
 - Los resultados son divulgados por laboratoristas de turno.

- Se pasa un informe con los resultados al área de investigación y desarrollo.
- El informe debe tener la firma de jefe de calidad como responsable de las concentraciones declaradas de las materias primas.
- Verificación de balanzas para el pesaje de los insumos.
 - Las balanzas para el pesaje deben estar calibradas y certificadas.
- Asegurar el pH del agua.
 - El agua debe tener un pH adecuado (6,8 – 7).
- En una licuadora mezclan los polvos junto con el agua amoniaco.
 - Se debe comprobar que la solución este homogenizada.
- Envasado.
 - Se envasa en los recipientes adecuados.
- Rotulación e identificación.
 - La rotulación debe tener la fecha de elaboración y cantidad contenida por envase.

2.2 Primer control de calidad

Este control se utiliza para la verificación de la calidad del colorante rojo cochinilla hidrosoluble y la no hidrosoluble. La forma en la que se evaluó las características del aditivo es identificando la cantidad de ácido carmínico que contiene, mediante cromatografía de capa fina. Culminado este control los encargados de la recepción podrán aceptarlo o no.

2.2.1 Cromatografía

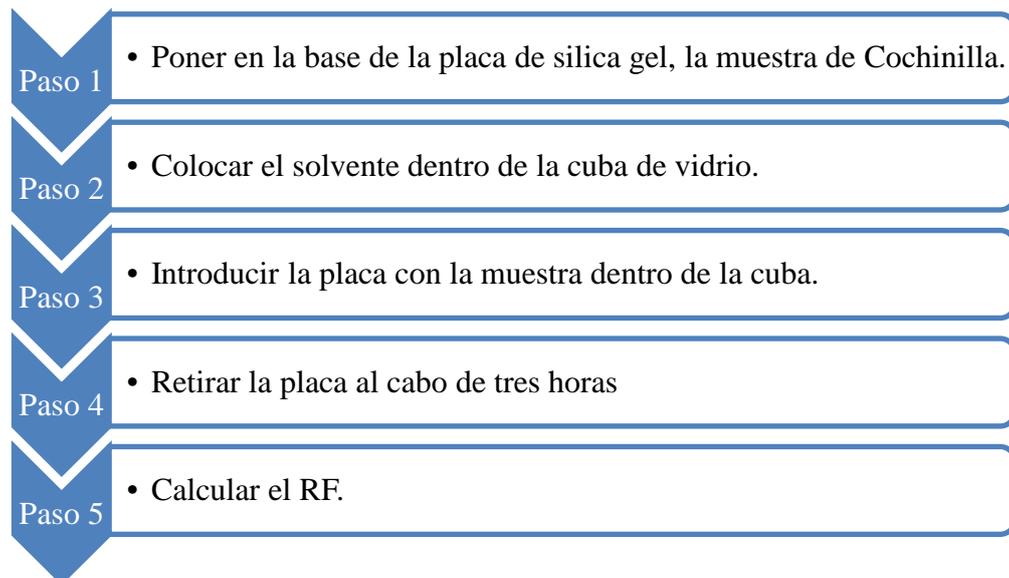
Este método consiste en separar diferentes compuestos de una solución, facilitando el reconocimiento de las sustancias que esta contiene. El compuesto principal a ser separado dentro del colorante rojo de cochinilla es el ácido carmínico, para ello se empleó la cromatografía en capa fina utilizando placas de silica gel y el solvente Acetato de etilo – metanol – agua, en las proporciones que se aprecian en la Tabla N°2.1.

Tabla 2.1 Sistema de solventes para identificar el ácido carmínico de la cochinilla.

PRUEBAS PRELIMINARES PARA DETERMINACIÓN DEL SISTEMA DE SOLVENTES	Proporciones (100 mL)
Etilacetato – metanol – agua	81 : 11 : 8
Etilacetato _ metanol	75 : 25

Fuente: (Ortega Cifuentes, 2011).

2.2.1.1 Pasos para realizar la corrida en la placa de silica gel.



2.2.1.2 Determinación de la constante RF.

La constante RF nos ayuda a indicar la ubicación de un compuesto determinado de la muestra sobre la placa de silica gel, para poder interpretar se utiliza la fórmula de la gráfica N°2.1.

$$R_F = \frac{\text{distancia recorrida desde el origen por el compuesto}}{\text{distancia recorrida desde el origen por el frente del eluyente}} = \frac{X}{Y}$$

Gráfica N°2.1 Formula para determinar RF.
Fuente: (Ortega Cifuentes, 2011).

2.3 Segundo control de calidad.

En este paso cuantificamos el ácido carmínico mediante la espectrofotometría UV visible, para ello se realiza los siguientes pasos:

- Paso 1. - Para preparar las soluciones utilizamos 10 gramos de cochinilla hidrosoluble y no hidrosoluble por separado y los aforamos con 100 mililitros de metanol al 70 % de riqueza.
- Paso 2. - Las soluciones homogenizadas se la procede a separar con papel filtro fino.
- Paso 3. - El resultado de la filtración se lo procede a diluir en un 50%, se utiliza como diluyente metanol.
- Paso 4. - Los patrones son preparados a concentraciones de 10, 20, 30, 40, 50, 60 y 70 ppm con agua destilada.
- Paso 5.- Calibrar el espectrofotómetro a una intensidad de 525 y 497 nm, respectivamente, se procede a poder las muestras una por una y apuntar los valores que da la lectura. Hacer tres réplicas de cada patrón.
- Paso 6. - Una vez obtenidos los datos se los ingresa en Excel para poder realizar la gráfica de dispersión.

Estos datos son utilizados para graficar las dos curvas de calibración, de las cuales se obtienen las ecuaciones de la recta para la cochinilla hidrosoluble y la no hidrosoluble, las mismas que se emplean para determinar la concentración de ácido carmínico dentro de las muestras aceptadas por la empresa.

2.4 Tercer método de control

El último control de calidad está relacionado con la cuantificación del ácido carmínico presente en el producto terminado, para esto se utiliza la espectrofotometría UV. De esta forma se podrá observar si el mismo sufrió cambios durante el proceso de elaboración del producto.

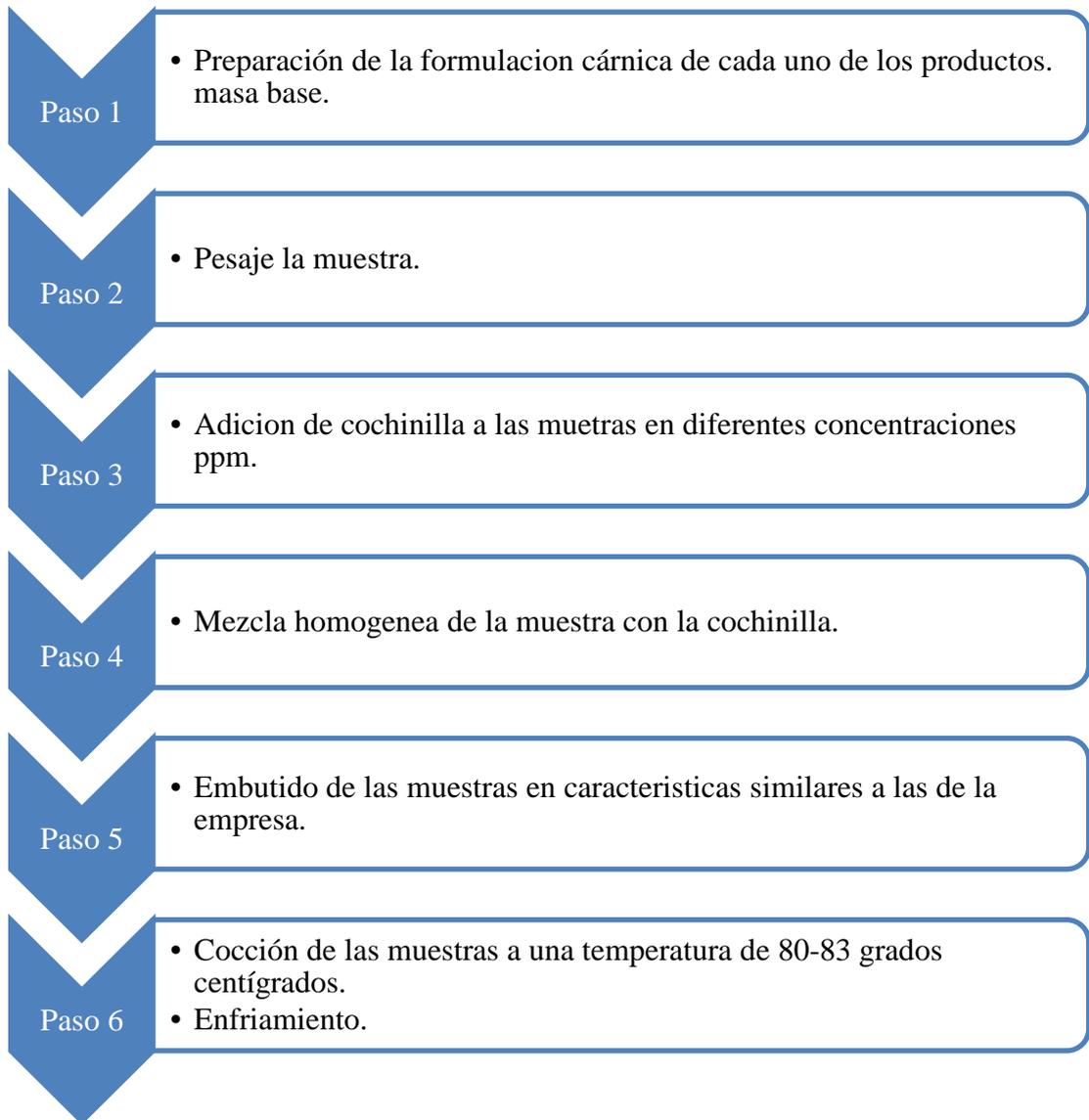
Para llevar a cabo el desarrollo de esta tesis, se seleccionó como muestras de la planta los siguientes productos:

- Salchicha tipo Frankfurt.
- Mortadela Bologña.

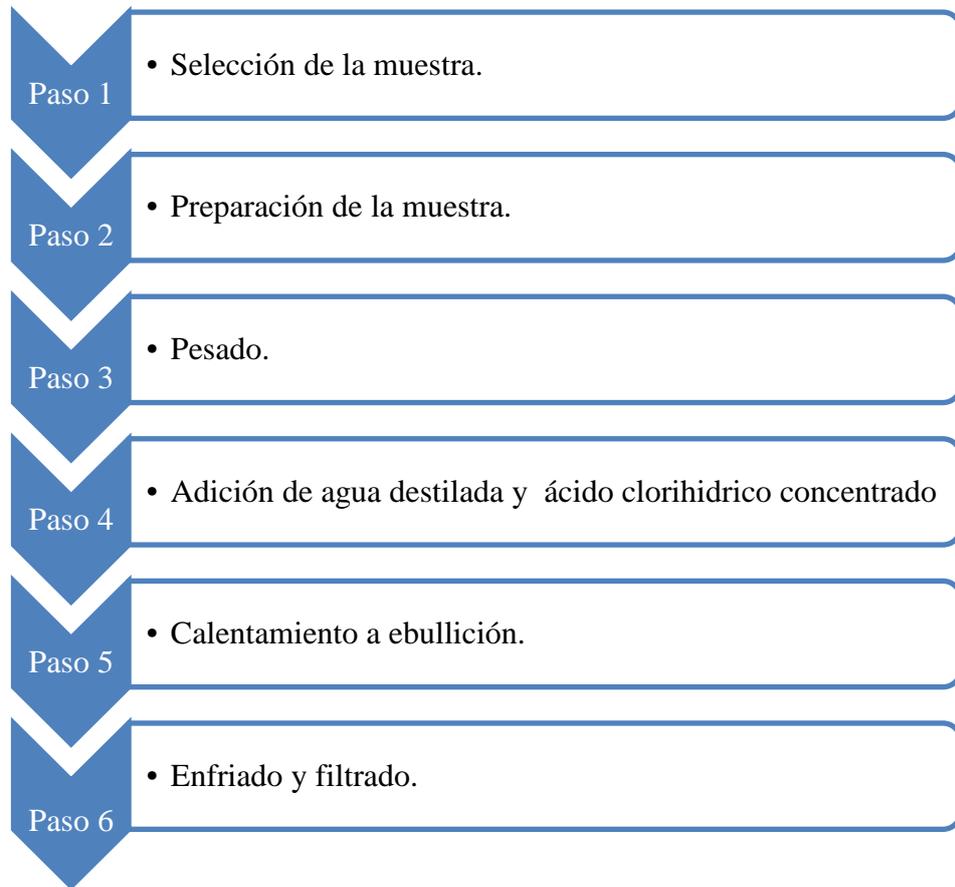
Para poder identificar la concentración del colorante dentro de los productos se procede a crear la curva de calibración, donde se realizan las lecturas en el espectrofotómetro de los patrones de fórmula base, fórmula de concentraciones de rojo de cochinilla en masa y se finaliza con las lecturas de los productos. Todos estos valores son ingresados en Excel independientemente para poder obtener gráficas de dispersión, mediante estos se procederá a realizar los mínimos cuadrados y regresión lineal de cada gráfica.

Los patrones de fórmula base y patrones de fórmula de concentraciones de cochinilla son elaborados para crear la tabla de parámetros de control dentro de la empresa, de este modo se va a determinar la concentración de colorante que va a tener el producto final. La fórmula de concentración de cochinilla en masa y las muestras de la fábrica tienen que pasar por un proceso de extracción del colorante rojo de cochinilla para ser llevadas al espectrofotómetro.

2.4.1 Preparación de muestras (embutidos)



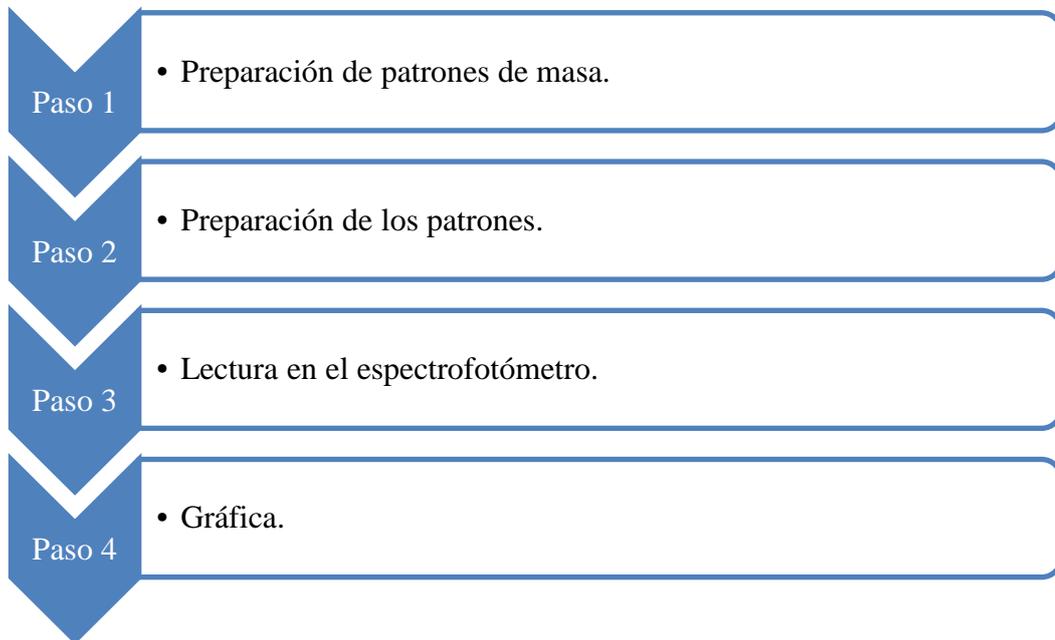
2.4.2 Preparación de muestras en estado sólido (masas y embutidos)



Descripción de los pasos

- Paso 1.- Muestreo del lote de producción dentro de la empresa.
- Paso 2. - Ala muestra seleccionada se la tiene que homogenizar, para poder extraer el colorante rojo de cochinilla.
- Paso 3.- Pésese 1 gramo de la muestra homogenizada en un vaso de precipitación.
- Paso 4.- En la muestra previamente pesada se coloca 50 mililitros de agua destilada, posteriormente se coloca 15 mililitros de ácido clorhídrico concentrado lentamente, para la extracción del colorante.
- Paso 5. - Hervir a fuego lento por una hora con treinta minutos.
- Paso 6. - se debe dejar enfriar para poder filtrar la solución.

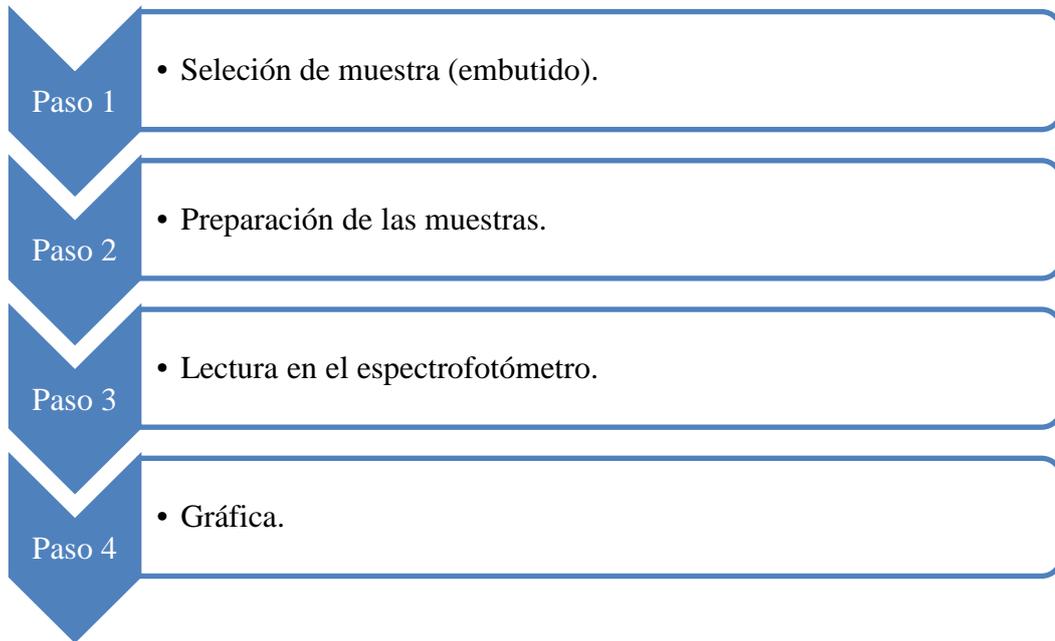
2.4.3 Pasos para realizar las lecturas de los patrones de masa en el espectrofotómetro



Descripción de los pasos

- Paso 1.- Para poder identificar la cochinilla dentro de los productos de la empresa se tuvo que preparar muestras de salchicha tipo Frankfurt y de mortadela Bologña, teniendo en cuenta que el único ingrediente modificado es el colorante rojo de cochinilla. Se prepararon seis muestras por producto con un peso de 150 gramos de cada uno, las concentraciones utilizadas son: 0, 20, 40, 60, 80 y 100 ppm.
- Paso 2. - Antes de realizar las respectivas lecturas, prepararon los patrones debido a que se trata de un sólido y el espectrofotómetro solo realiza lecturas en líquido.
- Paso 3. - Cuando se tiene ya preparada la muestra se procede a realizar las respectivas lecturas en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 343 nm.
- Paso 4. - Los datos obtenidos son graficados en Excel.

2.4.3.1 Pasos para realizar las lecturas de las muestras en el espectrofotómetro



Descripción de los pasos

- Paso 1. - Seleccionar una muestra representativa del lote.
- Paso 2.- Preparar la muestra para poder introducir en el espectrofotómetro
- Paso 3. - Realizar las lecturas en el espectrofotómetro, a una longitud de onda de 343 nm.
- Paso 4. - Los datos obtenidos son graficados en Excel.



Gráfica N°3.2 Placa de silica gel con cochinilla no hidrosoluble

Una vez realizada la corrida del rojo de cochinilla no hidrosoluble, se procedió a la determinación de la constante RF para identificar el ácido carmínico dentro de la placa, utilizando la fórmula de la gráfica N°2.1.

$$RF = \frac{3,5}{5,1} = 0,686$$

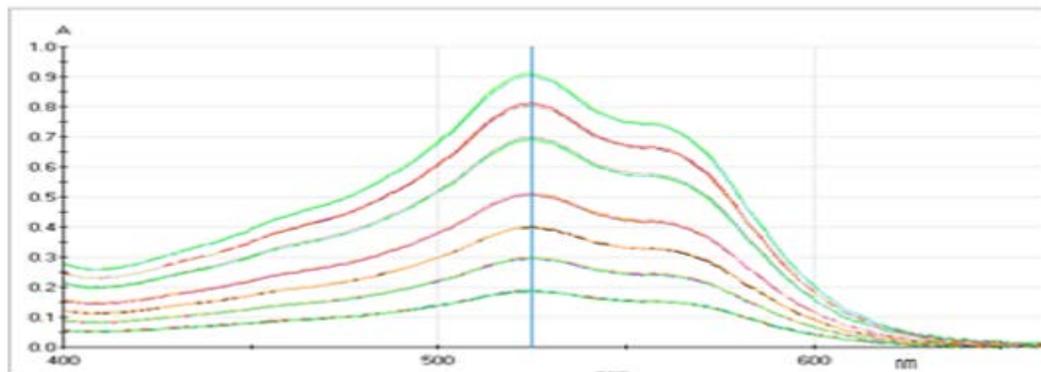
Obtenidos los RF respectivos las muestras podrán ser aceptadas o rechazadas dentro de la empresa.

3.2 Resultados segundo control de calidad

3.2.1 Análisis de la cochinilla hidrosoluble

Una vez que el rojo de cochinilla es aceptado por pasar el primer control de calidad, se procedió con lo siguiente.

Las soluciones con concentraciones conocidas fueron leídas en el espectrofotómetro. Las lecturas sirvieron para hacer una curva de calibración.



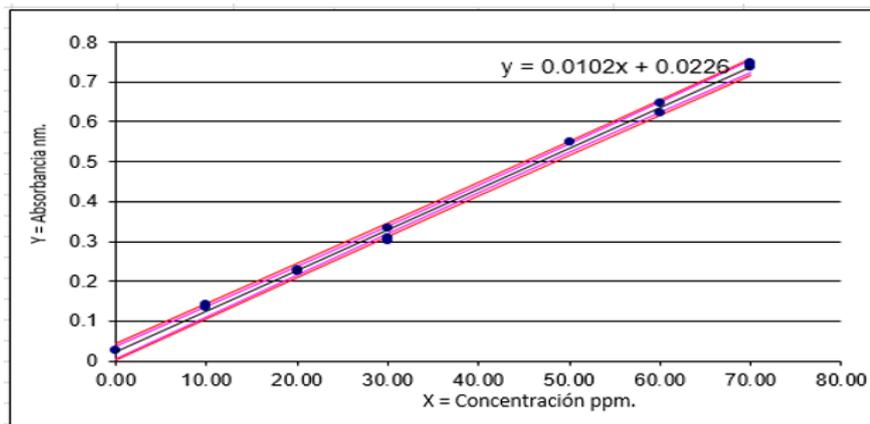
Gráfica N° 3.3 Espectro de absorción de las muestras hidrosolubles en alcohol.

En la gráfica 3.3 se observan los espectros de absorción de diferentes concentraciones de ácido carmínico hidrosoluble en alcohol metílico al 70%. Los datos fueron tomados a una longitud de onda de 525nm.

3.2.1.1 Lecturas de las soluciones de concentraciones conocidas de cochinilla hidrosoluble

Tabla 3.1 Datos obtenidos de patrones de cochinilla hidrosoluble.

X (ppm)	Y (A)
0	0.025
10	0.143
10	0.133
20	0.229
20	0.226
20	0.224
30	0.308
30	0.302
30	0.332
50	0.548
60	0.624
60	0.647
70	0.740
70	0.738
70	0.748



Gráfica N°3.4 Curva de calibración muestra hidrosoluble.

En la gráfica N°3.4 se obtuvo la ecuación $y = 0.0102x + 0.0226$ donde X= Concentración en ppm; Y= absorbancia (A).

3.2.1.2 Determinación de la concentración de ácido carmínico de la cochinilla hidrosoluble aceptada

Absorbancia = $y = 0.441A$.

Concentración = $x = ?$

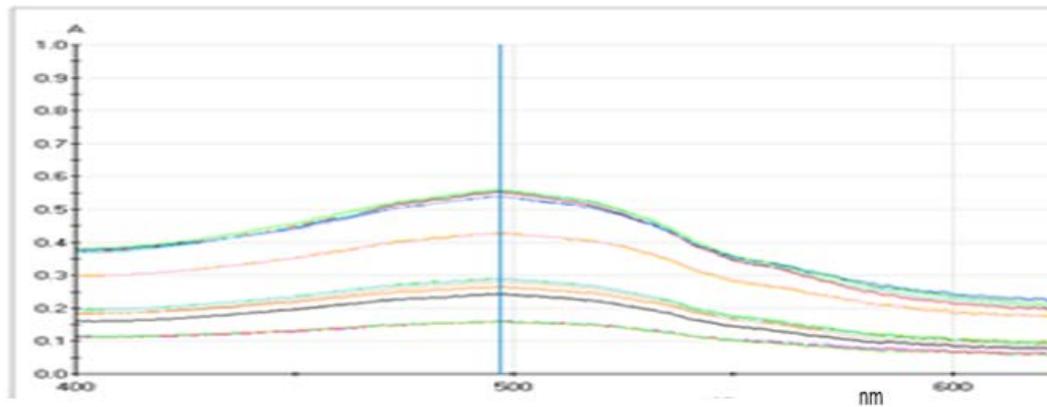
Ecuación de la recta $y = 0.0102x + 0.0226$

Calculo de la concentración $x = \frac{y-0.0226}{0.0102}$

$$x = \frac{0.441 - 0.0226}{0.0102}$$

$$x = 41.02ppm$$

3.2.2 Análisis de la cochinilla no hidrosoluble



Gráfica N°3.5 Espectro de absorción de las muestras no hidrosolubles en alcohol.

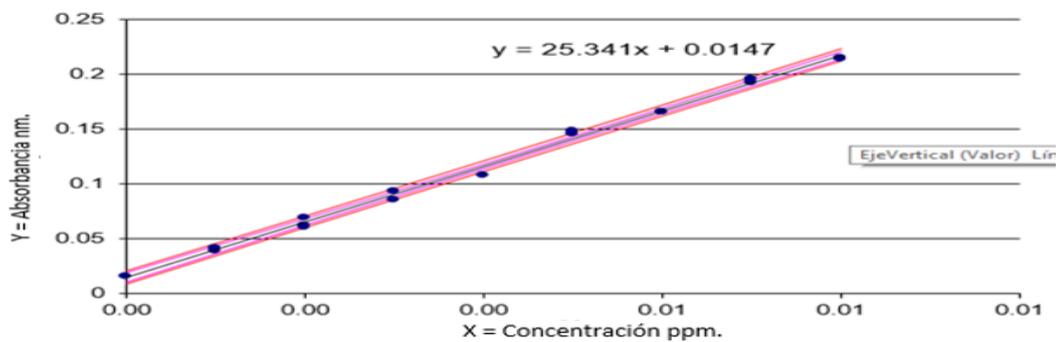
En la gráfica 3.5 se observan los espectros de absorción de diferentes concentraciones de ácido carmínico hidrosoluble en alcohol metílico al 70%. Los datos fueron tomados a una longitud de onda de 497nm.

3.2.2.1 Lecturas de las soluciones de concentraciones conocidas de cochinilla no hidrosoluble

Tabla 3.2 Datos obtenidos de muestras de cochinilla no hidrosoluble

X (ppm)	Y (A)
0	0.0163
0.001	0.039
0.001	0.042
0.002	0.069
0.002	0.061
0.002	0.062
0.003	0.093
0.003	0.086
0.004	0.108
0.005	0.15
0.005	0.15

0.005	0.15
0.006	0.17
0.006	0.166
0.006	0.166
0.007	0.195
0.007	0.20
0.007	0.19
0.008	0.21
0.008	0.215
0.008	0.215



Gráfica N°3.6 Curva de calibración muestra no hidrosoluble.

En la gráfica N°3.6 se obtuvo la ecuación $y = 25.341x + 0.0147$ donde X= Concentración en ppm; Y= absorbancia (A).

3.2.2.2 Determinación de la concentración de ácido carmínico de la cochinilla no hidrosoluble aceptada

Absorbancia = $y = 0.15$ A

Concentración = $x = ?$

Ecuación de la recta $y = 25.341x + 0.0147$

Calculo de la concentración $x = \frac{y-0.0147}{25.341}$

$$x = \frac{0.15 - 0.0147}{25.341}$$

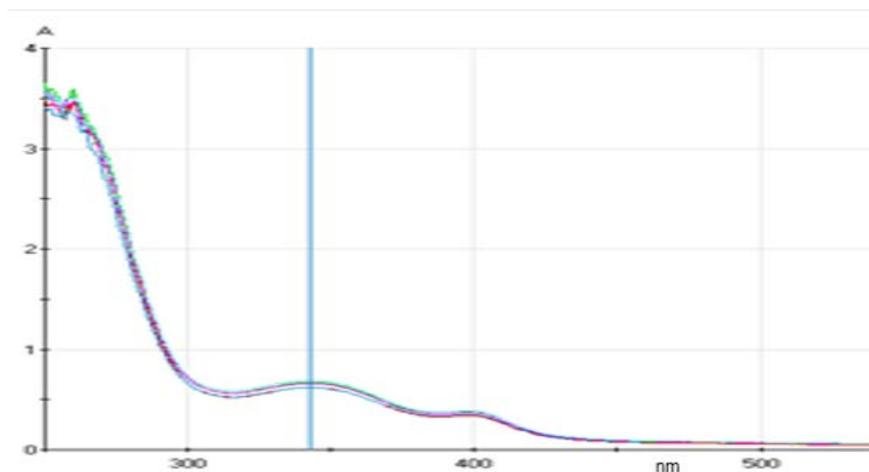
$$x = 0.0053ppm$$

3.3 Resultados del tercer control de calidad

Consta de dos partes:

- Curva de calibración con las lecturas de patrones.
- Análisis de muestras para comparar los datos obtenidos reemplazando en la curva de calibración.

3.3.1 Análisis de muestras con concentraciones conocidas.



Gráfica N°3.7 Espectro de absorción de las muestras de patrones de masas leídas a 343nm.

Gráfica N°3.7 Se realizó con las lecturas de las muestras preparadas de concentración conocida.

3.3.2 Curva de calibración de las muestras en el espectrofotómetro

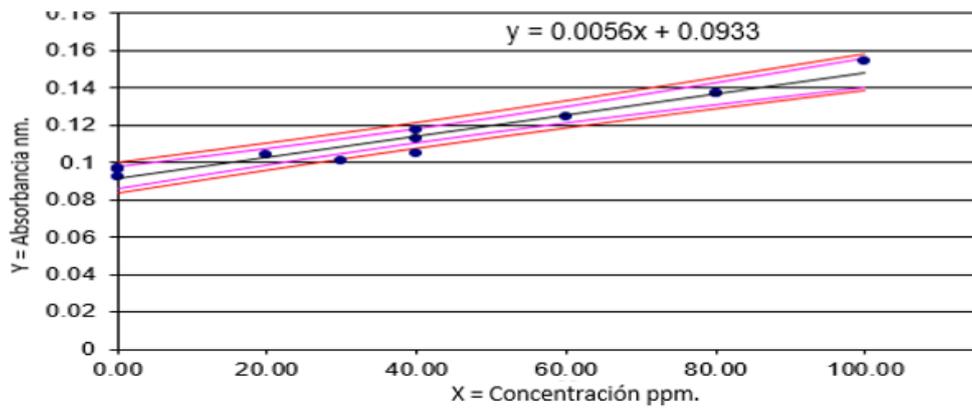
Finalizando las lecturas de las muestras en masa se procede a desarrollar las gráficas de dispersión, que nos ayudaran a desarrollar la ecuación de regresión, la misma será

utilizada para interpretar la concentración de rojo de cochinilla dentro del producto final de la empresa.

3.3.2.1 Muestras de masa.

Tabla 3.3 Datos obtenidos de muestras de masa con rojo de cochinilla.

X (ppm)	Y (A)
0	0.096
0	0.097
0	0.092
20	0.104
30	0.101
40	0.105
40	0.117
40	0.113
60	0.124
80	0.137
80	0.14
100	0.15



Gráfica N°3.8 Curva de calibración de los patrones del producto.

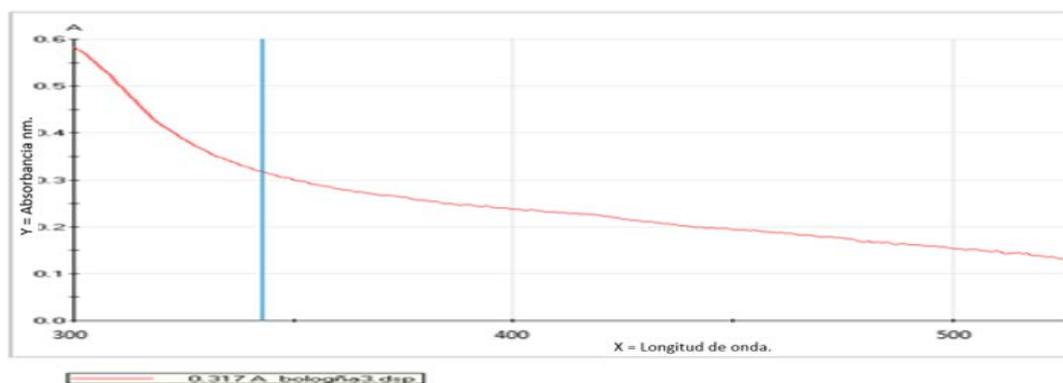
En la gráfica N°3.8 se obtuvo la ecuación $y = 0.0056x + 0.0933$ donde X= Concentración en ppm; Y= Absorbancia (A)

3.3.3 Resultados de la espectrofotometría de las muestras de producto terminado

Este punto de control de calidad se lo utiliza para verificar que el rojo de cochinilla no ha sufrido cambios durante el proceso de elaboración de los embutidos, si se presenta alguna alteración de este aditivo, se interpretará que no es apto para los productos de la empresa, para lo cual se hará una socialización con el distribuidor para que mejore el mismo o en caso de no hacerlo se tomará la decisión de cambiar de proveedor. Hay que indicar que el rojo de cochinilla al ser preparado para las lecturas, este tiende a cambiar de coloración por el efecto del ácido clorhídrico por este motivo en el espectrofotómetro entra una solución de color amarillenta según la concentración de ácido carmínico empleado en las muestras.

3.3.3.1 Determinación de la concentración de ácido carmínico en la mortadela Bologña expresada en ppm

Como primera parte se calculó la absorbancia mediante espectrofotómetro UV, se tomaron 17 muestras de producto final y se analizaron, cada una representó a un lote distinto por día, donde se obtuvo un dato promedio correspondiente a la absorbancia de 0,317A como se puede ver en la gráfica N°3.7. Seguido calculamos matemáticamente la cantidad de cochinilla en ppm colocadas en la mezcla para obtener el producto. Cuando tuvimos este resultados sustituimos en la fórmula de la recta para comparar los valores obtenidos.



Gráfica N°3.9 Absorbancia de la mortadela Bologña a 343 nm.

Cálculo matemático de ácido carmínico expresado en ppm presente en la muestra de producto terminado

Fórmula madre de la solución de cochinilla

Agua= 150kg.

Polvo de cochinilla= 6kg.

Amoniaco= 0,9Kg.

$$peso\ total = 150kg\ H_2O + 6kg\ cochinilla + 0.9kg\ amoniaco = 156.9$$

Factor de cochinilla en la formula madre:

$$Factor = \frac{6kg}{156.9kg} =$$

$$0,038 \frac{kg\ de\ cochinilla}{kg\ de\ solucion.}$$

Peso total de masa para mortadela Bologña = 1200kg.

Solución de cochinilla presente en la masa = 1267 kg.

Factor 0.038.

$$1267g \times 0,038 = 48.14g.$$

$$1200kg \times 1000 = 1200000g.$$

$$\frac{48,14g}{1200000g} \times \frac{1000mg}{1g} \times \frac{1000 \mu g}{1mg} = 40,12 \mu g/g$$

40,12 ppm.

3.3.3.2 Comprobación de la absorbancia obtenida en la mortadela tipo Bologña

Absorbancia leída en el espectrofotómetro UV = 0.317 A.

Ecuación de la recta $y = mx + b$.

Ecuación $y = 0.0056x + 0.093$.

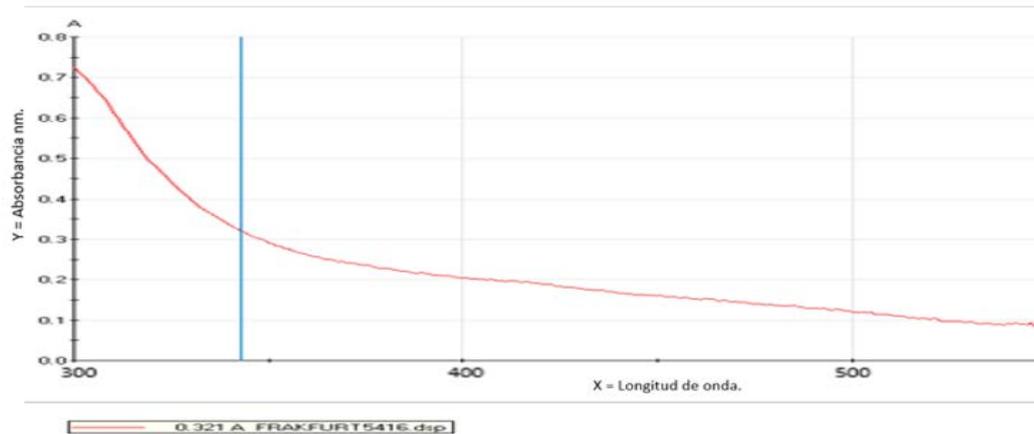
Concentración por cálculo matemático = 41.16ppm.

Sustitución. $y = 0.0056(40.12) + 0.093$.

$y = 0.317A$.

3.3.3.3 Determinación de la concentración de ácido carmínico en la salchicha tipo Frankfurt expresada en ppm

Como primera parte se calculó la absorbancia mediante espectrofotómetro UV, se tomaron 17 muestras de producto final y se analizaron, cada una represento a un lote distinto por día, donde se obtuvo un dato promedio correspondiente a la absorbancia de 0,321A como se puede ver en la gráfica N°3.9. Seguido calculamos matemáticamente la cantidad de cochinita en ppm colocadas en la mezcla para obtener el producto. Cuando tuvimos este resultados sustituimos en la fórmula de la recta para comparar los valores obtenidos.



Gráfica N° 3.10 Absorbancia de la Salchicha tipo Frankfurt leída a 343nm.

3.3.3.4 Comprobación de la absorbancia obtenida

Cálculo matemático de ácido carmínico expresado en ppm presente en la muestra de producto terminado. Formula madre de la solución de cochinilla

Agua= 150kg.

Polvo de cochinilla= 6kg.

Amoniaco= 0,9Kg.

$$\text{peso total} = 150\text{kg H}_2\text{O} + 6\text{kg cochinilla} + 0.9\text{kg amoniaco} = 156.9\text{kg}$$

Factor de cochinilla en la formula madre:

$$\text{Factor} = \frac{6\text{kg}}{156.9\text{kg}} =$$

0,038.

Peso total de masa para salchicha tipo Frankfurt = 1200kg.

Solución de cochinilla presente en la masa = 1300 g.

Factor 0.038 cochinilla.

$$1300g \times 0,038 = 49,4g.$$

$$1200kg \times 1000 = 1200000g.$$

$$\frac{49,4g}{1200000g} \times \frac{1000mg}{1g} \times \frac{1000ug}{1mg} = 41,16ug/g$$

41,16 ppm.

3.3.3.5 Comprobación de la absorbancia obtenida en la salchicha tipo Frankfurt

Absorbancia leída en el espectrofotómetro UV = 0,321 A.

Ecuación de la recta $y = mx + b$.

Ecuación $y = 0,0056x + 0,093$.

Concentración por cálculo matemático = 41,16ppm.

Sustitución. $y = 0.0056(41,16) + 0,093$.

$y = 0,323A$.

3.4 Discusión del primer control de calidad

Al realizar el primer método de control se puede observar en cada placa las diferentes corridas que presentan las muestras de cochinilla hidrosoluble y la no hidrosoluble, mediante las mismas se obtubieron los siguientes resultados:

- Cochinilla hidrosoluble RF=0,658.
- Cochinilla nohidrosoluble RF=0,686.

Estos datos son aceptados por que tienen un “valor entre 0,65 y 0,7 que es el rango óptimo que se puede tener según las condiciones (Espesor de la placa, fasa móvil, fase estacionaria, cantidad de muestra)” (Ortega Cifuentes, 2011).

3.5 Discusión del segundo control de calidad

En este método de control se puede establecer las ecuaciones de las rectas para la obtención de la concentración de ácido carmínico que se puede extraer de la cochinilla hidrosoluble y de la no hidrosoluble, determinando que la cochinilla no hidrosoluble aporta una concentración baja del ácido.

3.6 Discusión del tercer control de calidad

3.6.1 Discusión de la muestra de Mortadela Bologña

En este control de calidad se puede observar que la absorbancia de la mortadela Bologña dentro de la empresa es de 0.317 A, que es idéntica a la que se obtiene en la comprobación mediante la ecuación de la recta, de los patrones de muestra. Esta igualdad indica que el rojo de cochinilla mantiene su concentración inicial y no presenta pérdidas durante el proceso de elaboración de la misma.

3.6.2 Discusión de la muestra de Salchicha tipo Frankfurt

En este control de calidad se puede observar que la absorbancia de la salchicha Frankfurt dentro de la empresa es de 0.321 A, mientras que la absorbancia de la comprobación es de 0,323 A, esta variación indica que en el proceso de elaboración de la salchicha se pierde una cantidad aceptable del rojo de cochinilla.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones:

- Mediante este trabajo de graduación se pudo cumplir con éxito el objetivo general planteado, el mismo que consiste en implementar un control de calidad para el aditivo rojo de cochinilla que es utilizado como colorante para embutidos. Para ello se implementaron tres métodos de control de calidad.
- En el primer control de calidad, se aceptaron los aditivos en sus diferentes presentaciones, obteniendo los siguientes resultados:
 - Cochinilla hidrosoluble.- se obtuvo un RF= 0,658.
 - Cochinilla no hidrosoluble.- se obtuvo un RF=0,686.

En ambos casos los resultados obtenidos son satisfactorios para realizar la aceptación del producto, debido a que los RF nos indican que poseen ácido carmínico adecuado para la elaboración de los embutidos. Con ello se verifica la pureza del aditivo.

- El segundo control de calidad, determinó la cantidad de ácido carmínico presente en cada insumo, los mismos que fueron:
 - Cochinilla hidrosoluble.- se obtuvo una concentración de 41.02 ppm
 - Cochinilla no hidrosoluble.- se obtuvo una concentración de 0.0053 ppm.

Con estos resultados podemos decir que la cochinilla hidrosoluble es la que aporta en su totalidad el ácido carmínico para dar la coloración a los productos, mientras que la cochinilla no hidrosoluble actuará como un fijador debido a que no aporta en mayor cantidad ácido carmínico.

- El tercer control de calidad, ayuda a la determinación de ácido carmínico total

presente dentro del producto al final del proceso de elaboración, mediante el cual se puede decir si los colorantes que pasaron los dos controles anteriores perderán o no su concentración de ácido carmínico. Para la comprobación de este control de calidad se utilizó dos tipos de embutidos que se elaboran en la empresa, el primero es una mortadela tipo Bologña y el segundo es una salchicha tipo Frankfurt, dándonos los siguientes resultados:

- Mortadela Bologña contiene una concentración de ácido carmínico de 40,12ppm. Mediante este resultado se debe tener en cuenta la absorción del espectrofotómetro en 0,317 absorbancia (A) el mismo que se obtiene mediante los cálculos de la ecuación de la recta y el dato promedio obtenido de las diferentes lecturas de los productos de la empresa es de 0,317 absorbancia (A), indicándonos que el rojo de cochinilla no sufrió alteración durante el proceso de elaboración de la mortadela.
- Salchicha Frankfurt presenta ácido carmínico en una concentración de 41,16ppm. Del mismo modo que en la mortadela se procede a calcular la absorbancia mediante la ecuación de la recta obtenida para este producto, el cual da de 0,323 absorbancia (A) y el dato promedio obtenido por el espectrofotómetro es de 0,321 absorbancia (A), se puede observar una leve diferencia, debido a que la cochinilla se altera por el tipo de cocción que se realiza para este tipo de embutido.
- Gracias a los controles realizados para este trabajo se puede determinar que la cochinilla en el producto final, puede o no presentar alteración dependiendo del tipo de embutido y de los procesos que estos sufran, como se puede observar que en la mortadela no presenta ninguna disminución de ácido carmínico, mientras que en la salchicha si lo presenta debido a que la mortadela se embute en una tripa plástica y se la cocina en agua, mientras que la salchicha tipo Frankfurt es embutida en una tripa de celulosa y cocinada en vapor, lo que permite el arrastre del ácido carmínico aportado por la cochinilla hidrosoluble.

Recomendaciones:

- Se recomienda que en el procedimiento de fabricación de cada uno de estos productos analizados se adicione un paso donde constará que la adición de la solución de cochinilla a la mezcla se haga con la máquina apagada ya que estas máquinas tienen paletas que diseminan las gotas del colorante y por ende la concentración final va a ser menor a la indicada en la fórmula original.
- De igual manera se recomienda preparar soluciones de cochinilla diariamente ya que con un periodo de reposo muy largo la solución tiende a precipitar.

BIBLIOGRAFÍA.

Abril Díaz, N., Bárcena Ruiz, J. A., Fernández Reyes, E., Galván Cejudo, A., Jorrín Novo, J., Peinado Peinado, J., y otros. (2004). *Espectrofotometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas*. Campus Universitario de Rabanales, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Córdoba: Facultad de Medicina .

Agreda, M. (2009). *EVALUACIÓN DE SEIS MÉTODOS PARA LA EXTRACCIÓN DE ÁCIDO CARMÍNICO OBTENIDA A PARTIR DE COCHINILLA (Dactylopius coccus costa) SEGÚN CONDICIONES DE LABORATORIO DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA*. Recuperado el 9 de Mayo de 2016, de sitio web de Universidad de San Carlos:
http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/01/01_2467.pdf

Baldwin, J., Chou, A., & Solomon, W. (1997). *POPSICLE-INDUCED ANAPHYLAXIS DUE TO CARMINE DYE ALLERGY*. Recuperado el 11 de Mayo de 2016, de sitio web science:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1081120610630359>

Beaudouin, E., Kanny, G., & Lambert, H. (1995). *FOOD ANAPHYLAXIS FOLLOWING INGESTION OF CARMINE*. Recuperado el 11 de Mayo de 2016, de <http://europepmc.org/abstract/med/7538438>

Chung , K., Baker, J., Baldwin, J., & Chou, A. (2001). *IDENTIFICATION OF CARMINE ALLERGENS AMONG THREE CARMINE ALLEGY PATIENTS*.

Recuperado el 11 de Mayo de 2016, de sitio web de library:

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1034/j.1398-9995.2001.00693.x/full>

De, O., Serrano, P., & Orts, L. (2000). *ELABORACIÓN DE PREPARADOS CÁRNICOS FRESCOS: CARNICERÍA Y ELABORACIÓN DE PRODUCTOS CÁRNICOS (MF0297_2)*. (IC, Editor) Recuperado el 5 de Abril de 2016, de sitio de ebrary: <http://www.ebrary.com>

Delgado, M., & Pérez, J. (Marzo de 2006). *Universidad del Salvador*. Recuperado el 7 de Abril de 2016, de [ues.edu.sv](http://ri.ues.edu.sv): <http://ri.ues.edu.sv/5003/1/10131069.pdf>

Exterior, I. B. (2009). *PERFIL DE MERCADO COLORANTES NATURALES COCHINILLA*. Recuperado el 10 de Abril de 2016, de sitio web santacruztrade: <http://www.santacruztrade.com.bo/imagenes/sectores/exporte/cochinilla-colorante-.pdf>

Gómez, B. (2006). *EXTRACCIÓN Y ACETILIZACIÓN DE LOS COMPONENTES DE LA GRANADA COCHINILLA (Dactylopius coccus costa)*. Recuperado el 5 de Mayo de 2016, de sitio web de Universidad Autónoma del estado de Hidalgo; Pachuca: [http://dgsa.uaeh.edu.mx:8080/bibliotecadigital/bitstream/handle/231104/1690/Extracci%F3n%20y%20acetilaci%F3n%20de%20los%20componentes%20de%20la%20grana%20cochinilla%20\(Dactylopius%20coccus%20COSTA\).pdf;jsessionid=D9E2907F78700E995CA963020B6BA436?sequence=](http://dgsa.uaeh.edu.mx:8080/bibliotecadigital/bitstream/handle/231104/1690/Extracci%F3n%20y%20acetilaci%F3n%20de%20los%20componentes%20de%20la%20grana%20cochinilla%20(Dactylopius%20coccus%20COSTA).pdf;jsessionid=D9E2907F78700E995CA963020B6BA436?sequence=)

Herrera, C., Bolaños, N., & Lutz, G. (2003). *Química de Alimentos* (primera edición ed.). San José: Universidad de Costa Rica.

Ibáñez, F., Torre, P., & Irigoyen, A. (2003). *ADITIVOS ALIMENTARIOS*. Recuperado el 9 de Mayo de 2016, de sitio web de nutricion: http://www.nutricion.org/publicaciones/revista_agosto_03/funcionales/aditivos.pdf

- Instituto Boliviano de Comercio Exterior, I. (Marzo de 2009). *Evaluación del impacto comercial del biocomercio en Bolivia situación actual y perspectivas*. Recuperado el 7 de Abril de 2016, de sitio web de "bce.org.bo": http://ibce.org.bo/images/estudios_mercado/res_perfil_cochinillaCB02.pdf
- León, D. (2005). *Preparación del carmín en polvo a partir de la cochinilla procedente del cantón Oña, mediante los métodos de Carré y Francés*. Cuenca: Universidad de Cuenca.
- Morales, T. (2000). *ESTUDIO DE LOS COLORANTES ALIMENTARIOS PARA SU APLICACIÓN EN LAS BELLAS ARTES*. Recuperado el 5 de Abril de 2016, de sitio web de ebrary: <http://www.ebrary.com>
- Olea, S., & López, M. (2012). *Aspectos bromatológicos y toxicológicos de colorantes y conservas*. (E. D. Santos, Editor) Recuperado el 05 de Abril de 2016, de sitio web de ebrary: <http://www.ebrary.com>
- Ortega Cifuentes, V. C. (2011). *COMPARACIÓN DEL RENDIMIENTO DEL ÁCIDO CÁRMINICO ENTRE DOS PROCESOS DE DESHIDRATACIÓN DE LA COCHINILLA DE TUNAS CULTIVADAS EN GUANO*. Recuperado el 20 de Abril de 2016, de sitio web de Escuela Superior Politécnica de Chimborazo: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/1580#sthash.KHfpwfPn.dpuf>
- Sánchez, R. (2013). *LA QUIMICA DE LOS COLORANTES*. *Química Viva vol.12*. Recuperado el 9 de Mayo de 2016, de sitio web de Universidad de Buenos Aires: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86329278005>
- Tabar, A., Acero, S., Arregui, C., Urdánoz, M., & Quirce, S. (2003). *Asma y alergia por el colorante carmín*. Recuperado el 11 de Mayo de 2016, de sitio web de scielo: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272003000400009

Zarlenin. (22 de Noviembre de 2011). *Estadísticas para la investigación*. Recuperado el 15 de Mayo de 2016, de sitio web de slideshare:
<https://es.slideshare.net/zarlenin/estadistica-para-la-investigacin-sesin5-version-mejorable>