

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**



**“DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE COLORACIÓN Y SU ESTABILIDAD DEL COLORANTE AYRAMPO (*Tunilla soehrensii* Britt & Rose) EN LA ELABORACIÓN DEL YOGURT”**

**TESIS**

PRESENTADA POR:

**YURY HUAYTA FLORES**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

**INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**PUNO – PERÚ**

**2016**

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
ECUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

“DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE COLORACIÓN Y SU  
ESTABILIDAD DEL COLORANTE AYRAMPO (*Tunilla soehrensii* Britt & Rose)  
EN LA ELABORACIÓN DEL YOGURT”

TESIS

PRESENTADA POR:

**YURY HUAYTA FLORES**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

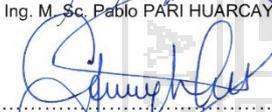
**INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

APROBADO POR EL SIGUIENTE JURADO:

**PRESIDENTE** :

  
Ing. M. Sc. Pablo PARI HUARCAYA

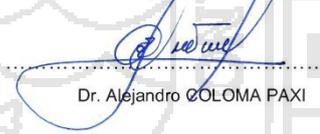
**PRIMER MIEMBRO** :

  
Ing. M. Sc. Genny Isabel LUNA MERCADO

**SEGUNDO MIEMBRO:**

  
Ing. Marienela CALSIN CUTIMBO

**DIRECTOR DE TESIS:**

  
Dr. Alejandro COLOMA PAXI

PUNO – PERÚ

2016

**Área: Ingeniería y tecnología**

**Tema: Desarrollo de procesos y productos agroindustriales sostenibles y eficientes**

**DEDICATORIA**

*A la memoria de mi padre Evaristo*

*Floro Huayta Apaza.*

*A mi querida madre Marcelina Flores  
Ticona, por su gran esfuerzo y su apoyo  
incondicional.*

*A mis queridos hermanos Justina  
Casilda, Lenin, Vilma Leonor, José  
Carlos, Edith, Wilver y Luis Enrique.*

*A mi tío Fidel Huayta, por su apoyo  
incondicional.*

*A todos los lectores, quienes difunden el  
conocimiento.*

*Yury H. F.*

## AGRADECIMIENTOS

A nuestra alma mater la Universidad Nacional del Altiplano, a la Facultad de Ciencias Agrarias y a nuestra Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, por haberme acogido en sus aulas, laboratorios, centros de investigación y producción.

A todos los catedráticos de la Universidad Nacional del Altiplano, quienes compartieron sus valiosos conocimientos, experiencias y valores humanos en mi formación profesional.

Mi sincera gratitud al director de la presente tesis Dr. Alejandro Coloma Paxi, por su magnífico aporte en la elaboración del proyecto, ejecución y culminación de la misma.

Al Ing. M. Sc. Pablo Pari Huarcaya por el apoyo en la conducción del presente trabajo de investigación. A la Ing. M. Sc. Genny Isabel Luna Mercado, Ing. Marienela Calsin Cutimbo e Ing. Catherine Saravia Velazco por sus aportes, correcciones y tiempo dedicado durante la realización del presente trabajo de investigación.

A todos mis compañeros de estudios y amigos, con quienes compartí mi vida universitaria, a quienes me alentaron, acompañaron en los momentos difíciles y gratos, a las personas que me inspiraron a ser mejor persona.

Al personal encargado de los laboratorios de: Post Cosecha, Microbiología e Ingeniería por su apoyo durante la ejecución del proyecto. A todas las personas que en forma directa o indirectamente hicieron posible la culminación del presente trabajo de investigación.

Finalmente mi gratitud a los Docentes del Centro de Cómputo y Centro de Idiomas de la Universidad Nacional del Altiplano.

## ÍNDICE

Pág.

ÍNDICE DE TABLAS	
ÍNDICE DE FIGURAS	
ÍNDICE DE ANEXOS	
RESUMEN	
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. AYRAMPO ( <i>Tunilla soehrensii</i> Britt & Rose) .....	3
2.1.1. Sinónimos.....	3
2.1.2. Descripción .....	3
2.1.3. Definición.....	3
2.1.4. Ubicación taxonómica .....	4
2.1.5. Descripción morfológica de la planta .....	4
2.1.6. Composición química del ayrampo .....	6
2.1.7. Usos y aplicaciones .....	7
2.1.8. Materia colorante del ayrampo .....	8
2.1.9. Estudio de los colorantes.....	11
2.1.10. Clasificación de colorantes.....	14
2.1.11. Aspectos toxicológicos.....	18
2.2. TEORÍA DE EXTRACCIÓN Y LAVADO DE LOS COLORANTES .....	19
2.2.1. Extracción.....	19
2.2.2. Lavado.....	20
2.2.3. Factores que influyen sobre la eficacia de la extracción de colorantes .....	21
2.3. YOGURT .....	24
2.3.1. Definición.....	24
2.3.2. Proceso de elaboración de yogurt.....	24
2.3.3. Defectos más comunes presentados en la elaboración de yogurt .....	30
2.3.4. Características de color del yogurt comercial en el sistema CIEL *a*b* .....	32
2.3.5. Requisitos microbiológicos para yogurt.....	32
2.4. MEDIDA DEL COLOR.....	33
2.4.1. Espectrofotometría.....	33
2.4.2. Análisis de imágenes.....	34
2.4.3. Etapas de procesamiento de imágenes .....	34

2.4.4.	Características de color .....	36
2.4.5.	Imágenes RGB.....	36
2.4.6.	Modelo de color HSL.....	38
2.4.7.	Espacio CIELAB.....	39
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	42
3.1.	LUGAR DE EJECUCIÓN.....	42
3.2.	MATERIAL EXPERIMENTAL .....	42
3.3.	MATERIALES, EQUIPOS E INSTRUMENTOS.....	42
3.3.1.	Equipos e instrumentos.....	42
3.3.2.	Materiales laboratorio.....	43
3.3.3.	Medios de cultivo .....	43
3.3.4.	Software .....	43
3.4.	METODOLOGÍA DEL PROCESO EXPERIMENTAL.....	44
3.4.1.	Proceso de coloración.....	44
3.4.2.	Proceso de pasteurización .....	45
3.4.3.	Proceso para obtener la estabilidad del yogurt con colorante de ayrampo en el almacenamiento.....	47
3.5.	MÉTODOS DE ANÁLISIS .....	50
3.5.1.	Determinación de color .....	50
3.5.2.	Análisis microbiológico.....	50
3.6.	FACTORES EN ESTUDIO .....	52
3.6.1.	Coloración (Etapa 1).....	52
3.6.2.	Estabilidad al Tratamiento Térmico (Pasteurización Etapa 2).....	52
3.6.3.	Estabilidad en almacenamiento (ETAPA 3).....	53
3.7.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	54
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	56
4.1.	PRIMERA ETAPA: PROCESO DE COLORACIÓN .....	56
4.1.1.	Resultados con CIEL*a*b del proceso de coloración.....	56
4.1.2.	Resultados con modelo de color HSL del proceso de coloración.....	58
4.2.	SEGUNDA ETAPA: ESTABILIDAD AL TRATAMIENTO TÉRMICO (PASTEURIZACIÓN).....	60
4.2.1.	Resultados con CIEL*a*b del proceso de pasteurización .....	60
4.2.2.	Resultados con modelo de color HSL del proceso de pasteurización .....	62
4.3.	TERCERA ETAPA: ESTABILIDAD EN ALMACENAMIENTO.....	64
4.3.1.	Resultados con CIEL*a*b del almacenamiento .....	64

4.3.2. Resultados con modelo de color HSL del almacenamiento.....	66
4.3.3. Resultado del análisis microbiológico de yogurt.....	68
CONCLUSIONES.....	1
RECOMENDACIONES.....	2
BIBLIOGRAFÍA.....	3
ANEXOS.....	8



## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
<b>Tabla 1.</b> Composición Química de Ayrampo por 100 gramos de porción comestible .....	6
<b>Tabla 2.</b> Composición del Ayrampo .....	7
<b>Tabla 3.</b> Algunos colorantes naturales según su origen .....	15
<b>Tabla 4.</b> Colorantes aditivos de los alimentos que no requieren certificación.....	16
<b>Tabla 5.</b> Defectos en la elaboración de yogurt y sus posibles causas .....	31
<b>Tabla 6.</b> Características del color de yogurt comercial y otros .....	32
<b>Tabla 7.</b> Requisitos microbiológicos para Leches fermentadas y acidificadas (yogurt, leche cultivada, cuajada, otros) .....	32
<b>Tabla 8.</b> Filtros para absorciometría.....	34
<b>Tabla 9.</b> Valores de las coordenadas en cubo de color .....	37
<b>Tabla 10.</b> Tratamientos del proceso de coloración de la leche .....	52
<b>Tabla 11.</b> Procesos de pasteurización de la leche coloreada .....	53
<b>Tabla 12.</b> Tratamientos del almacenamiento del yogurt .....	53
<b>Tabla 13.</b> Resultados del proceso de coloración con el sistema CIEL *a*b .....	56
<b>Tabla 14.</b> Resultados del proceso de coloración con el modelo de color HSL .....	58
<b>Tabla 15.</b> Resultados del proceso de pasteurización con el sistema CIEL *a*b.....	60
<b>Tabla 16.</b> Resultados del proceso de pasteurización con el modelo de color HSL .....	62
<b>Tabla 17.</b> Resultados del almacenamiento con el sistema CIEL *a*b .....	64
<b>Tabla 18.</b> Resultados del almacenamiento con el modelo de color HSL .....	67
<b>Tabla 19.</b> Resultados del análisis microbiológico del yogurt con y sin colorante .....	69
<b>Tabla 20.</b> Resultado de la repetición del análisis microbiológico del yogurt con y sin colorante a los cero y seis días .....	69

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1.</b> <i>Tunilla soehrensii</i> PH790.01. Cañon del Colca, Arequipa, Perú, 3790 m.s.n.m.....	5
<b>Figura 2.</b> <i>Tunilla soehrensii</i> PH790.1. Sectioned flower.....	5
<b>Figura 3.</b> <i>Tunilla soehrensii</i> PH788.1. Fruit with red seeds. Canon del Colca, Arequipa, 3440 m.s.n.m.....	6
<b>Figura 4.</b> Diagrama del proceso de Análisis de imágenes.....	35
<b>Figura 5.</b> Cubo unitario.....	38
<b>Figura 6.</b> Espacio de color CIELAB.....	40
<b>Figura 7.</b> Flujograma para el análisis del efecto de la coloración.....	45
<b>Figura 8.</b> Flujograma para el análisis del efecto de la pasteurización.....	46
<b>Figura 9.</b> Flujograma para la elaboración y almacenado de yogurt.....	49
<b>Figura 10.</b> Parámetro %L para cada tratamiento en la coloración.....	57
<b>Figura 11.</b> Parámetro C para cada tratamiento en la coloración.....	57
<b>Figura 12.</b> Parámetro H° para cada tratamiento en la coloración.....	58
<b>Figura 13.</b> Parámetro H para cada tratamiento en la coloración.....	59
<b>Figura 14.</b> Parámetro S para cada tratamiento en la coloración.....	59
<b>Figura 15.</b> Parámetro L para cada tratamiento en la coloración.....	60
<b>Figura 16.</b> Parámetro %L para cada proceso de pasteurización.....	61
<b>Figura 17.</b> Parámetro C para cada proceso de pasteurización.....	61
<b>Figura 18.</b> Parámetro H° para cada proceso de pasteurización.....	62
<b>Figura 19.</b> Parámetro H para cada proceso de pasteurización.....	63
<b>Figura 20.</b> Parámetro S para cada proceso de pasteurización.....	63
<b>Figura 21.</b> Parámetro L para cada proceso de pasteurización.....	64
<b>Figura 22.</b> Parámetro %L para cada tratamiento de almacenamiento del yogurt.....	65
<b>Figura 23.</b> Parámetro C para cada tratamiento de almacenamiento del yogurt.....	66
<b>Figura 24.</b> Parámetro H° para cada tratamiento de almacenamiento del yogurt.....	66
<b>Figura 25.</b> Parámetro H para cada tratamiento de almacenamiento del yogurt.....	67
<b>Figura 26.</b> Parámetro S para cada tratamiento de almacenamiento del yogurt.....	68
<b>Figura 27.</b> Parámetro L para cada tratamiento de almacenamiento del yogurt.....	68

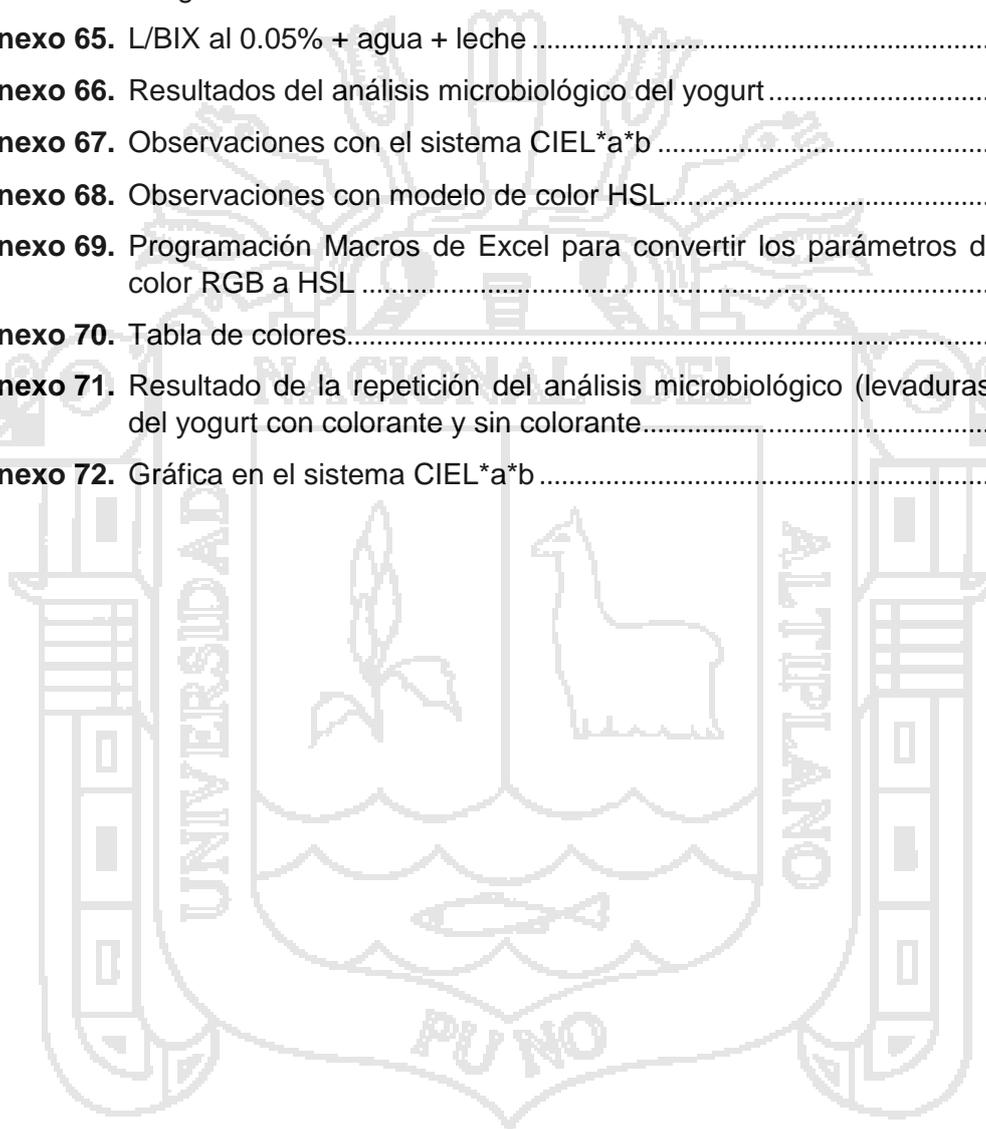
## ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
<b>Anexo 1.</b> Análisis de Varianza (ANVA) para la Lightness % (L) de la coloración de leche.....	8
<b>Anexo 2.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto de la cantidad de colorante, sobre la Lightness % (L) en la coloración de leche. ....	8
<b>Anexo 3.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto del tiempo de contacto, sobre la Lightness % (L) en la coloración de leche.....	8
<b>Anexo 4.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto de la interacción cantidad – tiempo de contacto, sobre la Lightness % (L) en la coloración de leche.....	8
<b>Anexo 5.</b> Análisis de Varianza (ANVA) para la croma (C) de la coloración de leche. ....	9
<b>Anexo 6.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto de la cantidad de semilla de ayrampo, sobre la croma (C) en la coloración de leche. ....	9
<b>Anexo 7.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto del tiempo de contacto, sobre la croma (C) en la coloración de leche.....	9
<b>Anexo 8.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto de la interacción cantidad – tiempo de contacto, sobre la croma (C) en la coloración de leche.....	9
<b>Anexo 9.</b> Análisis de Varianza (ANVA) para la Hue (H°) de la coloración de leche. ....	10
<b>Anexo 10.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto de la cantidad de semilla de ayrampo, sobre la Hue (H°) en la coloración de leche.....	10
<b>Anexo 11.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto del tiempo de contacto, sobre la Hue (H°) en la coloración de leche.....	10
<b>Anexo 12.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto de la interacción cantidad – tiempo de contacto, sobre la Hue (H°) en la coloración de leche.....	10
<b>Anexo 13.</b> Análisis de Varianza (ANVA) para Tonalidad (H) en la coloración de leche. ....	10
<b>Anexo 14.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto de la cantidad de semilla de ayrampo, sobre Tonalidad (H) en la coloración de leche. ....	11
<b>Anexo 15.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto del tiempo de contacto, sobre Tonalidad (H) en la coloración de leche. ....	11
<b>Anexo 16.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto de la interacción cantidad – tiempo de contacto, sobre Tonalidad (H) en la coloración de leche.....	11
<b>Anexo 17.</b> Análisis de Varianza (ANVA) para Saturación (S) en la coloración de leche.....	11
<b>Anexo 18.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto de la cantidad de semilla de ayrampo, sobre Saturación (S) en la coloración de leche.....	11

<b>Anexo 19.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto del tiempo de contacto, sobre Saturación (S) en la coloración de leche. ....	12
<b>Anexo 20.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto de la interacción cantidad – tiempo de contacto, sobre Saturación (S) en la coloración de leche.....	12
<b>Anexo 21.</b> Análisis de Varianza (ANVA) para Luminosidad (L) en la coloración de leche.....	12
<b>Anexo 22.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto de la cantidad de semilla de ayrampo, sobre Luminosidad (L) en la coloración de leche.....	12
<b>Anexo 23.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto de la interacción cantidad – tiempo de contacto, sobre Luminosidad (L) en la coloración de leche.....	13
<b>Anexo 24.</b> Análisis de Varianza (ANVA) para Lightness %(L) en la estabilidad al tratamiento térmico de leche coloreada.....	13
<b>Anexo 25.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto del tratamiento térmico, sobre Lightness %(L) de leche coloreada. ....	13
<b>Anexo 26.</b> Análisis de Varianza (ANVA) para Croma (C) en la estabilidad al tratamiento térmico de leche coloreada. ....	13
<b>Anexo 27.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto del tratamiento térmico, sobre Croma (C) de leche coloreada. ....	13
<b>Anexo 28.</b> Análisis de Varianza (ANVA) para Hue (H°) en la estabilidad al tratamiento térmico de leche coloreada. ....	14
<b>Anexo 29.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto del tratamiento térmico, sobre Hue (H°) de leche coloreada. ....	14
<b>Anexo 30.</b> Análisis de Varianza (ANVA) para Tonalidad (H) en la estabilidad al tratamiento térmico de leche coloreada. ....	14
<b>Anexo 31.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto del tratamiento térmico, sobre Tonalidad (H) de leche coloreada.....	14
<b>Anexo 32.</b> Análisis de Varianza (ANVA) para Saturación (S) en la estabilidad al tratamiento térmico de leche coloreada.....	14
<b>Anexo 33.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto del tratamiento térmico, sobre Saturación (S) de leche coloreada.....	15
<b>Anexo 34.</b> Análisis de Varianza (ANVA) para Luminosidad (L) en la estabilidad al tratamiento térmico de leche coloreada.....	15
<b>Anexo 35.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto del tratamiento térmico, sobre Luminosidad (L) de leche coloreada. ....	15
<b>Anexo 36.</b> Análisis de Varianza (ANVA) para Lightness %(L) en la estabilidad al almacenamiento del yogurt.....	15
<b>Anexo 37.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto del tiempo de almacenamiento, sobre Lightness %(L) del yogurt. ....	15
<b>Anexo 38.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto del colorante en almacenamiento, sobre Lightness %(L) del yogurt. ....	15

<b>Anexo 39.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto de la interacción tiempo de almacenamiento – colorante, sobre Lightness %(L) del yogurt.....	16
<b>Anexo 40.</b> Análisis de Varianza (ANVA) para Croma (C) en la estabilidad al almacenamiento del yogurt.....	16
<b>Anexo 41.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto del colorante en almacenamiento, sobre Croma (C) del yogurt.....	16
<b>Anexo 42.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto de la interacción tiempo de almacenamiento – colorante, sobre Croma (C) del yogurt.....	16
<b>Anexo 43.</b> Análisis de Varianza (ANVA) para Hue (H°) en la estabilidad al almacenamiento del yogurt.....	17
<b>Anexo 44.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto del tiempo de almacenamiento, sobre Hue (H°) del yogurt.....	17
<b>Anexo 45.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto del colorante en almacenamiento, sobre Hue (H°) del yogurt.....	17
<b>Anexo 46.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto de la interacción tiempo de almacenamiento – colorante, sobre Hue (H°) del yogurt.....	17
<b>Anexo 47.</b> Análisis de Varianza (ANVA) para Tonalidad (H) en la estabilidad al almacenamiento del yogurt.....	17
<b>Anexo 48.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto del tiempo de almacenamiento, sobre Tonalidad (H) del yogurt.....	18
<b>Anexo 49.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto del colorante en almacenamiento, sobre Tonalidad (H) del yogurt.....	18
<b>Anexo 50.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto de la interacción tiempo de almacenamiento – colorante, sobre Tonalidad (H) del yogurt.....	18
<b>Anexo 51.</b> Análisis de Varianza (ANVA) para Saturación (S) en la estabilidad al almacenamiento del yogurt.....	18
<b>Anexo 52.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto del tiempo de almacenamiento, sobre Saturación (S) del yogurt.....	18
<b>Anexo 53.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto del colorante en almacenamiento, sobre Saturación (S) del yogurt.....	18
<b>Anexo 54.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto de la interacción tiempo de almacenamiento – colorante, sobre Saturación (S) del yogurt.....	19
<b>Anexo 55.</b> Análisis de Varianza (ANVA) para Luminosidad (L) en la estabilidad al almacenamiento del yogurt.....	19
<b>Anexo 56.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto del tiempo de almacenamiento, sobre Luminosidad (L) del yogurt.....	19
<b>Anexo 57.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto del colorante en almacenamiento, sobre Luminosidad (L) en almacenamiento del yogurt.....	19
<b>Anexo 58.</b> Prueba de Tukey para determinar el efecto de la interacción tiempo de almacenamiento – colorante, sobre Luminosidad (L) en almacenamiento del yogurt.....	19

<b>Anexo 59.</b> Color del yogurt comercial y leche fresca en el sistema CIEL*a*b.....	20
<b>Anexo 60.</b> Color del yogurt comercial y leche fresca en el sistema HSL. ....	20
<b>Anexo 61.</b> Conversión del modelo RGB al HSL, del tratamiento tres (T3), de las ocho repeticiones. ....	20
<b>Anexo 62.</b> Portable Color Difference Meter SC 20.....	21
<b>Anexo 63.</b> Pasteurización de Lácteos a Diferentes Combinaciones de Tiempo y Temperatura.....	22
<b>Anexo 64.</b> Imágenes .....	22
<b>Anexo 65.</b> L/BIX al 0.05% + agua + leche .....	26
<b>Anexo 66.</b> Resultados del análisis microbiológico del yogurt.....	27
<b>Anexo 67.</b> Observaciones con el sistema CIEL*a*b .....	28
<b>Anexo 68.</b> Observaciones con modelo de color HSL.....	30
<b>Anexo 69.</b> Programación Macros de Excel para convertir los parámetros de color RGB a HSL .....	32
<b>Anexo 70.</b> Tabla de colores.....	33
<b>Anexo 71.</b> Resultado de la repetición del análisis microbiológico (levaduras) del yogurt con colorante y sin colorante.....	35
<b>Anexo 72.</b> Gráfica en el sistema CIEL*a*b .....	36



## RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de los parámetros de coloración y su estabilidad en el proceso de pasteurización en la elaboración y tiempo de almacenamiento del yogurt utilizando semillas de ayrampo (*Tunilla Soehrensii* Britt & Rose) como colorante. En la primera etapa (coloración de leche) se utilizó dos variables experimentales: cantidad de semilla de ayrampo por litro de leche fresca (2, 4 y 6 gramos/Litro) y tiempo de contacto de las semilla con leche (3, 6 y 9 minutos) a una temperatura constante de 30 °C. En la segunda etapa (proceso de pasteurización) se utilizó tres tipos de proceso de pasteurización (63 °C/1800s, 72 °C/15s y 89 °C/1s) en la leche pigmentada. En la tercera etapa (almacenamiento) se utilizó dos variables experimentales: tiempo de almacenamiento (0, 8 y 15 días) y colorante (con colorante y sin colorante) a una temperatura constante de 5 °C de almacenamiento. Se determinó parámetros de color (%L, C y H°) con el sistema CIEL\*a\*b y parámetros de color (H, S y L) con el modelo de color HSL. También se realizó el análisis microbiológico del yogurt a los 6 días de almacenado. Los resultados de la primera etapa mostraron que la cantidad de ayrampo y tiempo de contacto de estas afectaron significativamente en los parámetros de color tanto con el sistema CIEL\*a\*b y modelo de color HSL, resultando con mejor coloración a la cantidad de 2 g por litro de leche y un tiempo de 9 min (%L = 67.09, C = 25.05, H° = 326.38) y (H = 231.22, S = 150.78 y L = 193.69) respectivamente. Los resultados de la segunda etapa mostraron que el proceso de pasteurización afectó significativamente en los parámetros de color tanto con el sistema CIEL\*a\*b y modelo de color HSL, resultando con la mejor estabilidad con 89 °C/1s (%L = 63.33, C = 24.13, H° = 328.23) y (H = 227.93, S = 223.46, L = 218.9) respectivamente. Los resultados de la tercera etapa mostraron que el almacenamiento y colorante afectaron significativamente en los parámetros de color tanto con el sistema CIEL\*a\*b y modelo de color HSL, manteniendo una coloración rosa claro, obteniendo variaciones a los 15 días de (%L = 61.64 - 62.56, C = 15.00 - 14.55, H° = 351.64 - 335.60) y (H = 251.5 - 4.62, S = 129.76 - 87.53, L = 214.69 - 204.75) respectivamente. Por otra parte la proliferación de microorganismos patógenos en el yogurt con colorante a los 6 días de almacenado, se encontró levaduras ( $7,9 \times 10^3$  ufc/ml) y negativo para coliformes y mohos. En conclusión hubo un efecto significativo por la cantidad y tiempo de contacto de las semillas de ayrampo con una relativa estabilidad durante el proceso de pasteurización y tiempo de almacenamiento, y presencia de levaduras a los 6 días de almacenamiento.

**Palabras clave:** Ayrampo, Coloración, Pasteurización, Almacenamiento.

## I. INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años el consumidor ha desarrollado una marcada tendencia por los productos naturales y saludables. Indudablemente, la tendencia creciente es buscar cambiar los colorantes sintéticos por naturales. El yogurt es uno de los alimentos que tiene beneficios como; reducir los síntomas de la intolerancia a la lactosa y tiene beneficios en el tracto intestinal al incrementar el contenido en su flora microbiana.

En la actualidad la Región de Puno no aprovecha el ayrampo en la industria, que es una especie originaria de los andes, encontrándose al estado silvestre como fuente de colorante natural, sólo tiene uso artesanal para dar color a postres y refrescos, teñido de fibras de lana, así como en la medicina casera para aliviar ciertos males, su conocimiento y revaloración agroindustrial permitiría su empleo y uso en la agroindustria por el interés en colorantes naturales que en años recientes se ha renovado por los problemas en la salud por el uso y abuso de algunos colorantes sintéticos en alimentos, medicamentos y en productos cosméticos todo ello debido a los efectos toxicológicos. Por tales razones cabe indicar que las plantas son promisorias fuentes de colorantes naturales, aún en estos tiempos, se espera que muchas de ellas sean desarrolladas en los siguientes años, pero esto será posible sólo si hay una estrecha colaboración entre los botánicos, agrónomos, farmacólogos, químicos y agroindustriales.

Se pretende aprovechar el colorante de las semillas de ayrampo y promover el cultivo en nuestra región, por ser una especie silvestre originaria de los andes, el cual tolera las condiciones adversas como: sequías, heladas y granizadas, y su fácil reproducción por fragmentación (desprendimiento de sus artejos).

Por otro lado, un requisito evidente de un colorante es su estabilidad a largo plazo, debiendo resistir no sólo los procesos industriales a los cuales están sometidos los alimentos como a las condiciones de temperatura, pH, almacenamiento y otros. En consecuencia, es urgente el interés de contribuir con investigación en nuestra Región y el País; por tal razón se ha desarrollado el presente trabajo de investigación a nivel de laboratorio denominado "Determinación de los parámetros de coloración y su estabilidad del colorante ayrampo (*Tunilla Soehrensii* Britt & Rose) en la elaboración del yogurt", que contribuirá al aprovechamiento de estas semillas como fuente de colorante natural lo que permitirá un aporte que ayude crear su propia tecnología conllevando menores gastos económicos y darle un valor agregado a los recursos vegetales existentes en nuestra región y que sean accesibles los insumos para la elaboración del yogurt.

Visto las necesidades y oportunidades mencionadas, este trabajo tuvo los siguientes objetivos:

- Evaluar el efecto de la cantidad y tiempo de contacto de las semillas de ayrampo en la coloración de la leche para la elaboración de yogurt.
- Evaluar el efecto del tipo de proceso de pasteurización en la estabilidad del color de la leche pigmentada para la elaboración de yogurt.
- Evaluar el efecto del tiempo de almacenamiento en la estabilidad de color y la proliferación de microorganismos patógenos en el yogurt.



## II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. AYRAMPO (*Tunilla soehrensii* Britt & Rose)

#### 2.1.1. Sinónimos

Opuntia obliqua, Tunilla tilcarensis, Platyopuntia tilcarensis, Platyopuntia soehrensii var. tilcarensis, Opuntia tilcarensis, Opuntia cedergreniana, Opuntia boliviensis, Cactus ayrampo, Opuntia soehrensii, Opuntia multiareolata, Platyopuntia soehrensii, Airampo airampo (Doweld, 2002).

#### 2.1.2. Descripción

Artejos color verde claro hasta oscuro, de unos 6 cm de longitud x 3.5 cm lat. Areolas densas, ca. 10-20 por cada faz, con 3-8 espinas desiguales de hasta 3 cm generalmente grisáceas. Flores amarillas, anaranjadas o rojas de unos 4 cm de diámetro con estilo verde. Frutos rojo-violáceos por dentro y fuera, dehicentes lateralmente, de 2-4 cm de diámetro (Kiesling, y otros, 2011).

#### 2.1.3. Definición

El ayrampo o ayrampu es el nombre común (*Opuntia Soehrensii* Britt & Rose) (Familia Cactaceae). Es una planta herbácea pequeña, perenne, de tallos o pencas aplanadas ovoidales; sus frutos son pequeños bayas carnosas, que cuando están en el periodo de maduración son de color rojizo o vinoso, muy jugosos, de sabor ligeramente dulce, conteniendo muchas semillas ricas en materia colorante (Lock, 1997).

Es un cacto espinoso que pertenece a la familia cactácea se conoce como ayrampu en aymará y achupalla en quechua; la cuál es de forma de la tuna, en la cual se encuentran las semillas de color carmesí, este pequeño cacto no requiere condiciones para desarrollar, crecer en los cerros en forma silvestre, tiene espina menuda y delgada, se mantiene en una temperatura fresca. La parte que se emplea es el fruto, su recolección se realiza en los meses de marzo y abril. Tiene una propiedad expectorante, hemostáticos, antianémicos, antiinfeccioso, antiinflamatorio y antipirético (Zenteno, 2004).

El ayrampo se encuentra en estado silvestre en la zona central andina del Perú, en los Departamentos de Ayacucho, Apurímac y Junín, de donde es originaria (LOCK, 1997).

Es un cacto arbustivo silvestre y cultivado en los valles interandinos secos, especialmente en Cusco y Apurímac. Crece en la costa (Brack, 1999).

#### 2.1.4. Ubicación taxonómica

Según Solano (1998), la clasificación taxonómica del ayrampo es la siguiente:

Reino	: Vegetal
Subreino	: Phanerogamae
División	: Angiospermae
Clase	: Dicotiledóneas
Orden	: Cactales
Familia	: Cactaceae
Subfamilia	: Opuntioideae*
Tribu	: Opuntia*
Género	: Tunilla*
Especie	: <i>Tunilla soehrensii</i> Britt & Rose*

#### 2.1.5. Descripción morfológica de la planta

Esta planta está constituida por unas 2000 especies originarias de las regiones tropicales y templadas de América del sur. Normalmente se distribuyen en zonas muy diversas, aunque predominantemente áridas, serranas y montañas, son plantas perennes desde pequeñas hasta gigantescas (Solano, 1998).

##### 2.1.5.1. Tallos

Suculentos, continuos o articulados (conformando segmentos o cladodios), globosos, ovoides, cilíndricos, planos, angulosos, presentando en su superficie protuberancias longitudinales llamadas costillas, en las que se encuentran distribuidas una serie de protuberancias laguginosas llamadas aréolas, elípticas o circulares, donde nacen las ramas, flores, espinas, gloquídeos (pequeñas espinas o tricomas unicelulares con pequeñas púas apicales retrorsas), o pelusa (Solano, 1998).



**Figura 1.** *Tunilla soehrensii* PH790.01. Cañon del Colca, Arequipa, Perú, 3790 m.s.n.m. (Tephrocactus Study Group (the 'TSG Journal'), 2012).

#### 2.1.5.2. Flores

Frecuentemente fogacos, diurnas, o nocturnas, comúnmente hermafroditas, actinomorfas o zigomorfas (genero zigocactus, Cleistocactus, etc) predominantemente solitaria sósiles o pedunculadas, vistosas de varios colores. Perigonio o diploclamídeo, constituido por una gran cantidad tépalos corolinos, prefloración imbricada. Estambres numerosos dispuestos en espiral. Ovario ínfero, pluricarpelar, uniclorular, pluriovulado (Solano, 1998).



**Figura 2.** *Tunilla soehrensii* PH790.1. Sectioned flower (Tephrocactus Study Group (the 'TSG Journal'), 2012).

### 2.1.5.3. Fruto

Es una baya carnosa de forma esférica (Solano, 1998).



**Figura 3.** *Tunilla soehrensii* PH788.1. Fruit with red seeds. Canon del Colca, Arequipa, 3440 m.s.n.m. (Tephrocactus Study Group (the 'TSG Journal'), 2012).

### 2.1.6. Composición química del ayrampo

La composición química del fruto del ayrampo reportado por Collazos (1996) se puede observar en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Composición Química de Ayrampo por 100 gramos de porción comestible

COMPONENTES	CANTIDAD (%)
Energía (kcal.)	49.00
Agua (g)	85.90
Proteínas (g)	1.80
Grasa (g)	0.50
Carbohidratos (g)	11.60
Fibra (g)	-
Ceniza (g)	0.60
Calcio (mg)	85.00
Fósforo (mg)	0.20
Hierro (mg)	-
Retinol (mg)	-
Tiamina (mg)	0.01
Riboflavina (mg)	0.02
Niacina (mg)	24.00
Ácido ascórbico reducido (mg)	-

Fuente: Collazos (1996).

**Tabla 2.** Composición del Ayrampo

Determinación	%
Humedad	21.2
Ceniza	10.2
Fibra Neta	6.1
Grasa Cruda	1.7
Proteínas (N*6.25)	6.8
Azúcares Reductores	6.7
Colorante Bruto	23.6
Pepa (sin colorante)	23.7

Fuente: Tipe (1989).

### 2.1.7. Usos y aplicaciones

El ayrampo todavía sin uso industrial, es también un colorante del fruto de un pequeño cactus de la misma familia de la tuna. A pesar de ello estas frutas son escasamente comercializadas, se aprovechan sólo a nivel local rara vez llevan hasta los mercados urbanos (Lock, 1997).

#### 2.1.7.1. Alimentaria

De los frutos de las cactáceas son comestibles con sabores diferentes, algunos ácidos neutros y dulces, más o menos pulposos, preparan chicha a partir de la fruta madura y ponche de habas. Las semillas son usadas para darle color a dulces, mazamoras, refrescos y otros postres (Lock, 1997).

La mayoría de los frutos de las cactáceas y sobre todo del ayrampo se extrae pigmentos betacianicos usados como colorantes de alimentos (mazamorra, bebidas refrescantes), para todos casos el fruto se adiciona de forma directa (Gamarra S. , 2003).

El ayrampo sirve como colorante en mazamoras, gelatinas, y chicha (Solano, 1998).

#### 2.1.7.2. Medicinal

En la medicina casera es útil para la preparación de "Tisanas" y contra los siguientes males: Escorbuto, afta, reumatismo e infección de la sangre (Lock, 1997).

El ayrampo es utilizado en afta de los niños, viruela, lavado de heridas, curan fiebre y contra las hemorragias nasales (Brack, 1999).

Su empleo es recomendado para casos de fiebre interna, infección de las vías urinarias, contra el reumatismo, afecciones pulmonares presión arterial elevada y para el tratamiento de úlceras de estómago (Zenteno, 2004).

Conocimientos de las semillas de ayrampo son utilizados como: Febrífugo contra el sarampión “Piampia” y la viruela. Del mismo modo en las aftas de los niños “Kanakami” y en la convalecencia de los enfermos como refresco que permite recobrar las fuerzas (Calsin & Yanqui, 1999).

#### **2.1.7.3. Textilería**

Aún en la actualidad muchas de las comunidades nativas de nuestro país y de otros países utilizan diversas plantas en el teñido artesanal, especialmente en la fibra y lana (alpaca, oveja), utilizando las semillas de ayrampo (Lock, 1997).

Las semillas de los frutos de ayrampo son utilizados para teñir las fibras (Brack, 1999).

#### **2.1.7.4. Otros**

En los cercos se plantan sobre las pircas, protegen de los ladrones y de los malos espíritus (creencias); se ponen a los cimientos de las casa para la eliminación de las energías negativas. Se coloca detrás de la puerta para la defensa de la casa (Zenteno, 2004).

Sirve de resguardo de las casas, chacras porque sus espinas son muy punzantes le causan mucho dolor, produciendo en las zonas que penetra (Calsin & Yanqui, 1999).

#### **2.1.8. Materia colorante del ayrampo**

La materia colorante del ayrampo, al igual que la beterraga (*Beta vulgaris*), es la betanina. Las semillas de ayrampo contienen alrededor de 1% del pigmento (Lock, 1997).

El principal colorante consiste en betacianinas (rojo) de las que la betanina supone el 75 – 95 por 100. Pueden estar presentes pequeñas cantidades de betaxantina (amarillo) y productos de degradación de las betalainas (marrón claro); además de los colorantes, el jugo extracto contiene azúcares, sales o proteínas presentes naturalmente en la remolacha roja. La solución puede refinarse a fin de eliminar la mayoría de los azúcares, sales y proteínas (Madrid & Madrid, 2000).

##### **2.1.8.1. Las Betaínas**

Las betaínas constituyen un grupo de compuestos de aspecto parecido a las antocianinas y los flavonoides. Se denominaron incorrectamente, en las publicaciones antiguas, antocianinas “con nitrógeno”. Sólo se encuentran en diez familias de centrospermas, siendo la más conocida la remolacha roja. También se

hallan como compuestos hidrosolubles, en la savia de la célula del cardo, frutos del cactus, hierba carmín, así como en varias flores, tales como la buganvilla y el amaranto (Fennema, 1993).

En las plantas del orden de las centrospermas se han encontrado, en lugar de antocianinas como sustancias colorantes, betalaínas, que son glicósidos con colores amarillos (betaxantinas) y rojos (betacianinas) (Robinson, 1991).

El término betalaina describe a dos grupos de pigmentos, muy solubles en agua, relacionados química y biogénicamente, estos son, las betacianinas de color rojo violeta cuya máxima longitud de onda de absorción  $\lambda$  máx es 549 nm y las betaxantinas de color amarillo con una  $\lambda$  máx de 481 nm (Lock, 1997).

La presencia de estos pigmentos en las plantas tiene gran importancia, ya que su distribución está limitada a 10 familias del orden Cariophyllales o Centrosperma: Aizoceae, Amaranthaceae, Basellaceae, Cactaceae, Chenopodiaceae, Didieraceae, Holophytaceae, Nyctaginaceae, Phytolaceae y Protulacaceae (Lock, 1997).

La raíz de la remolacha roja alimenticia (*Beta Vulgaris*) contiene muy numerosos pigmentos entre los cuáles se pueden citar unas betalaínas rojas (betanidina, prebetadinina) y la betaxantina amarilla (vulgaxantina I y II). Después de maceración y extracción acuosa se obtiene un jarage rojo oscuro, después un polvo hidrosoluble (Multon, 2000).

#### **2.1.8.1.1. Estructura de las betalaínas**

La estructura del cromóforo en la betalaina es un sistema 1,7 – diazaheptametino protonado. Las betaxantinas, de color amarillo, se caracterizan por tener grupos R y R' que no extienden la conjugación del cromóforo 1, 7 – diazaheptametino; mientras en las betacianinas, de color rojo, la conjugación está extendida con un anillo sustituido (ejemplo ciclodopa). Todas las betacianinas están glicosiladas siendo dos las agliconas conocidas, la betamidina y su efímero isobetanidina, aunque últimamente también se ha identificado como constituyente natural, un glucósido de neobetanidina, la 14,15 – dihidrobetanidina (Lock, 1997).

En el caso de las betaxantinas, el sustituyente R' es un grupo amino o aminoácido y R es usualmente un hidrógeno, así; en la vulgaxantina del opuntia ficus-indica, R' y R forman un grupo prolina (Lock, 1997).

Se conocen unas setenta betalaínas y todas poseen las misma estructura básica, en que R y R' pueden ser el hidrógeno o un sustituyente

aromático. Su color se atribuye a las estructuras de resonancia. Si R y R' no proyectan la resonancia, el compuesto es amarillo y se denomina betaxantina. Si R o R' proyectan la resonancia, el compuesto es rojo y se llama betacianina (Fennema, 1982).

La unidad de azúcar más común es la glucosa y menos frecuente la soforosa y la ramnosa. Es también común que se encuentran aciladas con grupos sulfúricos, masónicos, 3-hidroxi-3-metilglucósido, cítricos, p-cumárico, ferúlico, cafeico y sináptico. La betacianina de mayor ocurrencia natural es la betanina (Lock, 1997).

#### 2.1.8.1.2. Características Generales

- Estabilidad:

pH : estable a pH entre 6-7

Temperatura : poco estable

Luz : poco estable

Redox : estable

- Solubilidad:

Agua : soluble

Aceite : insoluble

Etanol : soluble

- Color:

Rojo violeta (expresado en betanina)

- Espectrofotometría:

Máximo en agua de pH 5 aproximadamente 535 nm.

- Pureza:

Nitratos : No más de 2 g. de anión nitrato/g. de colorante rojo.

Arsénico : No más de 3 mg/kg.

Plomo : No más de 10 mg/kg.

Mercurio : No más de 1 mg/kg.

Cadmio : No más de 1 mg/kg.

Metales pesados (expresados en Pb) : No más de 40 mg/kg (Lock, 1997).

La betanina (D-glupiranósido de betanidina) es el agente colorante principal; las especificaciones alimentarias precisan que la preparación comercial

debe contener al menos 1% de betanina cuando esta preparación es líquida (Multon, 2000).

El pigmento aislado la betanina de la *Beta vulgaris* (beterraga) tuvieron un éxito breve como adulterantes del vino al observar que una planta en un rincón del viñedo garantizaba la pigmentación de una cosecha de uvas, que, de no estar ella presente, hubiese sido poco pigmentada (Fennema, 1982).

### **2.1.9. Estudio de los colorantes**

#### **2.1.9.1. Color**

Es la impresión que hace en la retina del ojo la luz reflejada en los cuerpos. Parte de la energía radiante que percibe el ojo humano a través de las sensaciones visuales generadas por la estimulación de la retina del ojo y que corresponde al intervalo de 400 a 800 nm de longitud de onda. Todos los cuerpos reflejan la radiación de ciertas longitudes de onda y absorben las de otras. Ejemplo un cuerpo azul refleja la luz con la longitud de onda correspondiente al azul y absorbe la luz de las demás longitudes de onda del espacio visible (Alcazar del Castillo, 2002).

Las sustancias o los objetos ofrecen color por que absorben parte de la luz incidente que refleja o pasa a través de los mismos. En este contexto, el término “parte” significa que la luz de determinadas longitudes de onda se absorbe más que la de otras. La luz que alcanza nuestros ojos, reflejada o transmitida, es, en consecuencia, más rica en ciertas bandas del espectro visible que en otras (Coultate, 1998).

#### **2.1.9.2. Importancia del color en los alimentos**

El color es un factor importante para valorar la calidad de un alimento. En efecto, frecuentemente está ligado a la maduración, presencia de impurezas, realización apropiada o defectuosa de un tratamiento tecnológico, malas condiciones de almacenamiento, comienzo de una alteración de microorganismos, etc. Por eso se basan en el color varios métodos oficiales para valorar la calidad de los alimentos (Cheftel & Cheftel, 1999).

La calidad de un alimento, además de sus características microbiológicas, se basa en general en el color, flavor, textura y valor nutritivo. Dependiendo del alimento en particular, estos factores pesan en grado diverso al evaluar la calidad global. Sin embargo, uno de los más importantes atributos de la calidad sensorial de un alimento es el color (Fennema, 1993).

El color se utiliza como índice de la calidad de varios alimentos. Los albaricoques secos, claros, de color naranja brillante se venden más que los oscuros y secos, debido en parte a la expectativa de un sabor en los primeros (Charley, 1995).

La aceptabilidad del color de un alimento, cualquiera que se ve influenciada por muchos factores, culturales, geográficos y sociales de la población. Naturalmente, el color así como otros hábitos alimentarios pueden ser considerados como tipo de antropología culinaria de una región específica. Sin embargo, con independencia de las características o hábitos de una zona determinada, ciertos grupos de alimentos son solamente aceptables si están comprendidos dentro de una cierta escala de color. La aceptación se halla reforzada por un precio económico, ya que en muchos casos la materia prima se valora por su color (Fennema, 1993).

### **2.1.9.3. Colorantes**

Un colorante es cualquier sustancia que imparte color a otro material del cual se adicione. Los colorantes tienen una infinidad de aplicaciones y los productos alimenticios no son la excepción (Ancco & Zamata, 2004).

Aquella sustancia que añaden o devuelven color a un alimento e incluyen componentes naturales de sustancias alimenticias y otras fuentes naturales que no son normalmente consumidos como alimentos por sí mismos y no son habitualmente utilizados como ingredientes característicos en alimentación (Madrid & Madrid, 2000).

Los colorantes son aditivos, que se agregan a los alimentos con la finalidad de mejorar las características organolépticas de éstos, recuperar el color original perdido en un proceso de transformación y para uniformizar el color de los alimentos de lote a lote (Hatta & Ramos, 2000).

Los preparados obtenidos a partir de los alimentos y otras materias naturales obtenidas mediante extracción física o química que ocasione una selección de los pigmentos que se usan como componentes nutritivos o aromáticos (Madrid & Madrid, 2000).

La primera sensación que se percibe de un alimento y la que determina el primer juicio sobre su calidad, ya que tiende a veces a modificar subjetivamente otras sensaciones, como el sabor, el color, condicionando el éxito o fracaso de un producto en el mercado (Cubero & Monferrer, 2002).

#### 2.1.9.4. Propiedades físicas y químicas de los colorantes

##### 2.1.9.4.1. Propiedades físicas

Estas a su vez pueden clasificarse como propiedades de aplicación y como propiedades de uso final:

- Los colorantes de acuerdo a su aplicación deben ser: líquidos, sólidos o en forma de pastas, es decir, que en las propiedades de aplicación incluyen la solubilidad, la afinidad y la velocidad de teñido.
- Los colorantes por su solubilidad pueden dividirse en: hidrosolubles (solubles en agua), liposolubles (solubles en grasas) y en insolubles.
- Por su afinidad, los colorantes deben ser capaces de unirse fuertemente a la sustancia, fibra o bien unirse a esta físicamente; y por su velocidad de teñido, siendo muy importante la intensidad del color.
- Las propiedades de uso final son: el tono, color resistente (resistente a ataques) que son los factores degradantes tales como: la luz, tratamientos de humedad, tratamientos térmicos, sobre la base de estos se toma en cuenta la selección de colorante, de tal manera que tenga un uso final aceptable (Choqueza, 2001).

##### 2.1.9.4.2. Propiedades químicas

- Para el desarrollo de las propiedades químicas de los colorantes es esencial la presencia de un grupo cromóforo y de un grupo a un auxócromo.
- El grupo cromóforo confiere a la molécula de la sustancia que lo contiene los llamados cromóforos que van a provocar la aparición de un color (por desplazamiento). Aunque este sea coloreada no es capaz de teñir fibra u otras sustancias, pero esta adquiere la propiedad de colorante, cuando se introducen en la molécula de los grupos auxócromos constituidos por radicales saturados que le confieren adherencias al colorante.
- Los principales auxócromos son: el hidroxilo (OH), el amino (-NH<sub>2</sub>), el sulfónico (SO<sub>3</sub>H), el carboxílico (COOH) y el sulfuro (SR), estos grupos van a determinar si la sustancia colorante tiene carácter ácido o básico.

- En general el color de un colorante se debe al estado de instauración las moléculas y cuando estas se saturan el material se vuelve incoloro (reducción del colorante).
- El color de un colorante puede ser intensificado añadiendo grupos metilo, etilo o fenilo para aumentar el peso molecular (Choqueza, 2001).

#### **2.1.10. Clasificación de colorantes**

Los colorantes se clasifican en dos grandes grupos, según su procedencia sea natural o sintético.

##### **2.1.10.1. Colorantes naturales**

Son pigmentos coloreados que se encuentran en la naturaleza y se extraen por diferentes métodos. Estos a su vez se pueden dividirse en colorantes naturales de origen animal, vegetal y mineral (Cubero & Monferrer, 2002).

Son pigmentos importantes por el color que imparten a los productos en que se encuentran de un modo natural, algunos de ellos, como el  $\beta$ -caroteno y los pigmentos de la remolacha, se extrae hoy de sus fuentes habituales para utilizarlos, como colorantes en alimentos que no los contienen (Coulter, 1998).

Los colorantes naturales son los productos de extracción que proceden de materias primas alimentarias y pueden estar asociados a numerosas impurezas; en efecto, los procedimientos de extracción tiene un valor técnico variable si bien los compuestos obtenidos no tienen composición ni propiedades colorantes constantes; todo esto hace que los colorantes naturales sean, frecuentemente, más fáciles de fabricar por síntesis que por procedimientos de extracción y presenten así mejores características de pureza (Multon, 2000).

No se debe caer en el error de considerar inocuos a estas sustancias por ser de procedencia natural. La OMS (Organización Mundial de la Salud) obliga a seguir una investigación toxicológica cuando el colorante es empleado en concentraciones más elevadas de las presentes en el producto natural, o cuando se modifica su estructura durante el proceso de extracción. Por tanto, los colorantes de origen natural han de cumplir unas exigencias y pautas antes de ser aprobados su uso (Fennema, 1993).

**Tabla 3.** Algunos colorantes naturales según su origen

<b>Nombres</b>	<b>Origen</b>	<b>Color</b>
Achiote (Bixa Orellana)	Vegetal	Rojo
Airambo (Opuntia soeherensii Britt & Rose)	Vegetal	Violeta claro
Aliso (Bixa Orellana)	Vegetal	Marrón
Antanco (Relbunium hypocarpium)	Vegetal	Rojo
Calamar (Sepia officinalis)	Animal	Negro y pardo
Cinabrio	Mineral	Rojo anaranjado
Cochinilla (Dactilopius coccus)	Animal	Gama de rojos
Chanque (Concholepas concholepas)	Animal	Violáceo
Chilca (Baccharis latifolia)	Vegetal	Amarillo y verde
Hematita	Mineral	Ocre rojo
Indigo (Indigofera suffruticosa)	Vegetal	Azul
Maíz morado (Zea mays)	Vegetal	Morado
Molle (Schinus molle)	Vegetal	Amarillo
Mullaca (Muehlenbeckia volcánica)	Vegetal	Azul
Tara (Caesalpinia spinosa)	Vegetal	Marrón
Tierra de pantano	Mineral	Negro

Fuente: Gibaja (1998).

#### 2.1.10.1.1. Características de los colorantes naturales

- Tienen un poder de tinción menor que los colorantes sintéticos, esto hace que se necesita más dosis de aplicación y por tanto aumenta el costo.
- Son más inestables a las diferencias y condiciones; pH, temperatura y humedad.
- No ofrecen una uniformidad de color tan clara como los sintéticos.
- Algunos además de influir en el color del alimento, también modifican su aroma y sabor (flavor).
- Se degradan más fácilmente en el producto y en el medio ambiente.
- Ofrecen una imagen de producto “natural”, allí donde se aplican.

#### 2.1.10.1.2. Colorantes exentos de certificación

Los colorantes permitidos que pueden añadirse a los alimentos y no necesitan certificación de la FDA se indican en la Tabla 4, junto con las restricciones para su uso, si es que existen. Aunque estos colorantes están exentos de los requerimientos de certificación formal de la FDA son, no obstante, controlados por la FDA para asegurar que su pureza está de acuerdo con las especificaciones y que se usan en consonancia con la legislación. Obviamente, el uso de muchos de estos aditivos es autolimitante debido al flavor, color, carestía, etc. Muchas preparaciones tienen un uso doble; por ejemplo, los zumos de frutas

y hortalizas se pueden clasificar más como ingredientes de los alimentos que como aditivos de color.

Puede existir sutil diferencia entre ambos la cual tiene que ser decidida caso por caso. Análogamente algunas especias (por ejemplo, azafrán, cúrcuma y pimentón) juegan un papel doble como saborizantes y colorantes (Fennema, 1993).

**Tabla 4.** Colorantes aditivos de los alimentos que no requieren certificación

Colorante aditivo	Restricción
Extracto de achiote	Ninguna
$\beta$ -caroteno	Ninguna
Remolacha en polvo	Ninguna
$\beta$ -8-carotenal	Ninguna
Cantaxantina	Ninguna
Caramelo	Ninguna
Carmina	Ninguna
Aceite esencial de zanahoria	Ninguna
Extracto de cochinilla	Ninguna
Harina de algodón tostada, parcialmente desengrasada cocida	Ninguna
Gluconato ferroso	Coloración de las olivas
Frutas, zumos de hortalizas	Ninguna
Base de extractos de hollejos de uva (antocianina)	Bebida no alcohólicas
Pimentón, oleorresina de pimentón	Ninguna
Riboflavina	Ninguna
Azafrán	Ninguna
Dióxido de titanio	1% Máximo
Cúrcuma, oleorresina de cúrcuma	Ninguna
Azul ultramarino	Sal colorante

Fuente: Fennema (1993).

#### 2.1.10.2. Colorantes sintéticos

Son obtenidos por síntesis química, pueden ser dos clases: síntesis de moléculas nuevas o síntesis de moléculas iguales a las que se encuentran en el medio natural. También se les conoce con el nombre de colorantes certificados, debido a que han sido estudiadas exhaustivamente sus propiedades físicas y químicas. La mayor parte de estos colores se usan como pigmentos en pinturas, y en revestimientos protectores y aplicación en cosméticos y medicamentos. Debido a su carácter "artificial" han sido más estudiadas sus interacciones con el hombre (Cubero & Monferrer, 2002).

La mayoría son utilizados desde hace mucho tiempo, pertenecen a series químicas variadas:

- Colorantes azoicos: tartrazina, amarillo anaranjado, azorrubina, amaranto, rojo cochinilla A, rojo altura AC, negro brillante BN, pardo FK;
- Derivados quinoles: amarillo de quinoleina;
- Derivados del trifenilmetano: azul pentano V;
- Diversos: eritrosina, indigotina, verde ácido brillante.

La estructura y la pureza de estos compuestos, lo mismo que su modo de obtención, están perfectamente definidos (Multon, 2000).

Los nuevos colorantes químicamente sintetizados tenían numerosas ventajas sobre los pigmentos “naturales”. Eran más brillantes, más estables, más baratos y ofrecían mayor diversidad de tonalidades. Pronto fueron, sin embargo, diferentes las propiedades tóxicas de algunos de estos colorantes, aunque la mayor parte de sus efectos no se manifestaron en los consumidores, sino en los trabajadores de las fábricas en que se elaboraban. El número de colorantes ha ido incrementando de una manera progresiva desde entonces, pero también ha ido creciendo la conciencia de su toxicidad (Coultate, 1998).

#### **2.1.10.2.1. Características de los colorantes sintéticos**

- Cubre toda la gama de colores.
- Son de más alta pureza que los naturales, por los que tienen más rendimiento con menos cantidad, lo que hace que sean más baratos.
- Son más estables a los cambios en condiciones de medio ambiente.
- Ofrecen un color más homogéneo al producto.
- Tiene una inocuidad más cuestionada y estudiada.
- Poseen un mercado más limitado a consecuencia de las diferencias de la legislación de cada país (Coultate, 1998).

#### **2.1.10.3. Elección del colorante a aplicar en alimentos**

Para acertar en el colorante que se debe emplear en un producto es tener en cuenta:

- Características del alimento a colorear.
- Presencia de otras sustancias en el alimento que puede llegar a interaccionar con el colorante y provocar inestabilidad y efectos de aplicación.
- Proceso de elaboración del alimento, teniendo presente las características físicas químicas de cada colorante y su estabilidad a diferentes parámetros como pH, luz y temperatura, etc.

- Permeabilidad de los envases frente al oxígeno, a la luz, etc.
- Tiempo y condiciones de almacenamiento.
- Legislación vigente en cada país suponiendo que el producto producido en nuestro país sea exportado (Cubero & Monferrer, 2002).

### **2.1.11. Aspectos toxicológicos**

Desde 1978, el dosis toxicológico de los colorantes autorizados ha sido objeto de atenciones particulares y evaluaciones regulares, especialmente de la JECFA (FAO/OMS) y el comité científico de la Alimentación humana (CEE) que han publicado monografías e informes sobre el tema. La mayor parte de los colorantes alimentarios han sido objeto de la definición de una dosis diaria admisible (DDA). Hay pocos ensayos realizados en el hombre, pero se puede considerar que se dispone de unos retrocesos importantes colorantes, si bien hay un cierto factor de seguridad. Sin embargo, desde el punto de vista toxicológico, algunos colorantes poseen todavía problemas (Multon, 2000).

#### **2.1.11.1. La acción de la flora bacteriana**

Como consecuencias presentes en la alimentación, los colorantes van a encontrarse en el tubo digestivo donde van a sufrir en la acción de los jugos digestivos y de la flora intestinal. En lo concierne, por ejemplo, a los colorantes azoicos, la flora bacteriana parece jugar un papel importante gracias a la presencia de una actividad azorreductásica, cuyo resultado es la ruptura del enlace - N = N - . Esto hace aparecer amina cíclicas que pueden, por su lado, ser absorbidas y metabolizadas (Multon, 2000).

#### **2.1.11.2. Absorción intestinal - reexcreción biliar**

Según las teorías de la absorción intestinal, los compuestos altamente pobladas son débilmente absorbidas en el tubo digestivo. Esto se ha confirmado por algunos trabajos experimentales; si las moléculas de colorantes son, en general, muy poco absorbidas, no es lo mismo para los metabolitos producidos en el curso de la azorreducción microbiana; así, el 95% de la dosis oral de tartrazina sería absorbida por esta vía en la rata, y en la orina de 48 horas se encuentra 1% tartrazina, de ácido p-acetamidobenceno-sulfónico y 74% de ácido sulfanílico (Multon, 2000)

#### **2.1.11.3. Catabolismo hepático**

Cuando el colorante llega al hígado, puede sufrir degradaciones que tendrán lugar esencialmente a nivel de los microsomas. Estas reacciones serán

especialmente reducciones, N-desalquilaciones, hidroxilaciones o conjugaciones. Tomemos el caso de los colorantes azoicos:

- Por azorreducción, se obtendrán dos aminas, la una primaria, la otra sustituida; esta reducción se hace por un sistema enzimática microsomal y el FAD como coenzima;
- Por desalquilación, se obtendrán compuestos desmetilados;
- La hidroxilación puede convertirse en una importante si la reducción no ha tenido lugar;
- La conjugación con el ácido glucorónico favorece la hidrosolubilidad y la excreción (Multon, 2000).

#### **2.1.11.4. Carcinogénesis y colorantes**

Los colorantes azoicos utilizados en la alimentación son unos compuestos sulfonados hidrosoluble; se piensa que no son cancerígenos porque se eliminan rápidamente y porque su metabolismo no hace aparecer más que derivados aminados, sulfonados, carboxilados o hidrolizados. De hecho, esta concepción es válida en su conjunto, pero es necesario subrayar que la cancerización depende de múltiples factores aparentemente no relacionados, como el estado nutritivos sin embargo, se comprueba que la carcinogénesis azoica es cosa de derivados liposolubles (prohibidos en la alimentación) y no se ha puesto en evidencia la acción carcinogénica de los colorantes azoicos hidrosolubles (Multon, 2000).

## **2.2. TEORÍA DE EXTRACCIÓN Y LAVADO DE LOS COLORANTES**

Muchos productos orgánicos naturales se separan de su estructura original por medio de la extracción, lavado, lixiviación, etc. El método a emplearse en la extracción está determinado por tres factores:

- La cantidad de constituyentes solubles en el material.
- Naturaleza del sólido que depende del tamaño de partículas.
- Distribución de sólidos que depende en el material, debido a que el solvente actúa primeramente en las capas exteriores y posteriormente en las capas subsiguientes. Esto da como consecuencia que la extracción se vaya haciendo más difícil y la velocidad de la extracción sea menor, cuando mayor es la cantidad de soluto constituyente (Ancco & Zamata, 2004).

### **2.2.1. Extracción**

Al ser una primera operación de separación de un amplio abanico de industrias de transformación (azúcar, zumo de frutas, bebidas alcohólicas, etc.), la extracción

constituye el punto de la cadena agroalimentaria en que las industrias de alimentos toman el relevo al ámbito meramente agrícola (Marfart & Béliard, 1994).

Deriva del vocablo latino *extrahire* (sacar fuera de), el verbo *extraer* evoca una separación selectiva en la que se retiene una de las fracciones (el extracto) y se rechaza la otra (el residuo). Sin embargo, ya que a menudo se prefiere hablar de “coproducto” más que subproducto, el residuo primario se somete también a una extracción que permite su aprovechamiento y aumento de valor (Marfart & Béliard, 1994).

Para la extracción de la materia colorante, se plantean diversas metodologías de extracción en las cuales se buscan por esto cierto equilibrio entre los rendimientos, mínima cantidad de compuestos contaminantes y el evitar los costos muy altos (Hatta & Ramos, 2000).

#### 2.2.1.1. Extracción con agua

- Relación de materia prima: solvente = 1:7.5
- Velocidad de agitación = 650 rpm
- Temperatura de agitación = medio ambiente
- Tiempo de extracción = 25 min.
- Número de etapas de extracción = 1

#### 2.2.1.2. Extracción con alcohol metílico industrial de 96°

- Relación de materia prima: solvente = 1:2
- Velocidad de agitación = en forma manual
- Temperatura de agitación = medio ambiente
- Etapas de lavado = 5

#### 2.2.2. Lavado

Es una operación casi idéntica a la extracción, siendo la diferencia principal el que el interés se centra en la sustancia inerte que se convierte así en el producto buscado, mientras el disolvente utilizado es el agua, que es barato y fácilmente obtenible. El lavado se lleva a cabo generalmente en aparatos que permiten la adición de agua fresca sobre la sustancia a lavar. A veces el lavado se lleva a cabo en una serie de estadios. Aunque el agua es barato, como la cantidad utilizada en algunos lavados es muy grande, puede resultar provechoso (Marfart & Béliard, 1994).

## **2.2.3. Factores que influyen sobre la eficacia de la extracción de colorantes**

### **2.2.3.1. Naturaleza del solvente**

Debido a numerosas razones evidentes, el solvente más adecuado y mayormente empleado en las industrias agroalimentarias es el agua. El agua es el solvente más universal y útil a la vez para la extracción de azúcares (sacarosa, dextrinas y maltosa en cervecera, lactosa en industrias lácteas, etc.), para la extracción de compuestos nitrogenados (extracción de proteínas de cualquier origen) y para la de sales minerales (Marfart & Béliard, 1994).

### **2.2.3.2. pH del medio de extracción**

El pH del medio de extracción interviene principalmente en la disolución de los compuestos solubles y en la solubilización de la fracción hidrosoluble. Las macromoléculas con cierta polaridad, principalmente las proteínas están muy afectadas por el pH sólo son solubles en la medida en que el pH está alejado de su punto isoelectrónico (a menudo situado entre 4 y 5) (Marfart & Béliard, 1994).

### **2.2.3.3. Temperatura**

Resulta difícil conectar de forma simple la influencia de la temperatura sobre la extracción ya que este factor influye de forma compleja sobre todos los efectos relacionados con la extracción a grandes rasgos, se pueden distinguir dos casos (Marfart & Béliard, 1994).

#### **2.2.3.3.1. Extracción en las que no se dan hidrólisis enzimáticas**

En estos casos los valores elevados de temperatura favorecen el rendimiento de extracción.

- El calor facilita la extracción al permeabilizar las paredes celulares que se desnaturalizan.
- El calor, al menos en los intervalos usuales de temperatura, aumenta la solubilidad de los materiales que se desean extraer.
- El calor aumenta los coeficientes de difusión.
- Por último, no solo el paso de jugo a través de la masa de substrato sólido sino también las posteriores operaciones de separación (sedimentación o filtración). Por el contrario una temperatura excesiva, actúa en sentido contrario, por desnaturalización de los productos a extraer (Marfart & Béliard, 1994).

#### **2.2.3.3.2. Extracción en las que intervienen hidrólisis enzimática**

En estos casos nos situamos en las temperaturas óptimas de actividad de las enzimas implicadas, sin perjuicio que tras la hidrólisis modifiquemos la temperatura para adaptar en las etapas siguientes. En cervecería, se favorece sucesivamente la acción de cada grupo enzimático empleando valores escalonados de temperatura. Para la extracción proteica, las temperaturas más favorables a los enzimas proteo líticas son del orden de 40 a 50 °C (Marfart & Béliard, 1994).

#### **2.2.3.4. Agitación del disolvente**

Incrementa la difusión y por lo tanto aumenta la transferencia del material, desde la superficie de las partículas a la solución. Más aún, la agitación de suspensiones de partículas finas previene la sedimentación y, se usa más efectiva la superficie interfacial. En cuanto a la agitación habría que ver que esta sea adecuada, es decir una velocidad moderada (Jiménez, 2005).

Generalmente cuando se habla de la velocidad del agitador se debe hacer siempre la siguiente consideración entre:

- Velocidad alta que da rapidez a la mezcla.
- Velocidad baja donde se requiere baja potencia (Jiménez, 2005).

#### **2.2.3.5. Tamaño y forma de las partículas**

Está claro que existe un doble interés en trabajar sobre partículas finas: los intercambios osmóticos serán más importantes cuando mayor será la superficie total expuesta por las partículas y cuando menor sea el radio de ellas. Por ello, en la práctica, la extracción siempre va precedida de una operación mecánica (corte, raspado, triturado, etc.) (Marfart & Béliard, 1994).

#### **2.2.3.6. Tiempo de extracción**

El tiempo de extracción o difusión está en función inversa a los factores de temperatura y agitación, pero hasta ciertos límites, ya que a mayores temperaturas y mayor número de revoluciones por minuto en el agitador, se logra extracciones más rápidas. Es necesario dar tiempo suficiente para que el soluto pueda difundirse hasta la superficie, donde podrá ponerse en contacto con el solvente (Jiménez, 2005).

#### **2.2.3.7. Número de lavados**

Es necesario determinar el número de lavados a que se debe someter la materia, para obtener un extracto de un grado de concentración o suficientemente

alto a asimismo tratar de agotar completamente la sustancia o soluto valioso (Ancco & Zamata, 2004).

#### **2.2.3.8. Equilibrio entre el solvente y el soluto**

Es necesario tener en cuenta la cantidad de solvente utilizado para la extracción, ya que si es muy baja no se logra extraer todo el soluto presente en el sólido y se produce absorción del soluto por el sólido y si por el contrario la cantidad del solvente es muy alta, se tendrá una solución muy diluida (Ancco & Zamata, 2004).

#### **2.2.3.9. Calidad del solvente**

Debe ser un buen solvente, selectivo y su viscosidad suficientemente baja que pueda circular libremente. En las primeras etapas de la extracción debe usarse relativamente puro, conforme se realiza la extracción, la concentración del soluto aumentará y la relación de extracción disminuirá progresivamente, debido a que la gradiente de concentración se va reduciendo porque la solución se hace más viscosa (Jiménez, 2005).

#### **2.2.3.10. Purificación del extracto**

Es necesaria la purificación de los extractos, para eliminar sustancias extrañas que hayan sido extraídas. Si bien las temperaturas elevadas dan más solubilidad del soluto en el solvente, también tiende a extraer cantidades excesivas de solutos indeseables. Por eso es necesario purificar las impurezas de la etapa anterior. La purificación se hace por filtración ya sea en filtros de prensa o filtros al vacío. En el procedimiento purificado se evalúa el contenido total de sólidos (Ancco & Zamata, 2004).

## 2.3. YOGURT

### 2.3.1. Definición

El yogurt, es el resultado de la fermentación de la leche, a partir de las bacterias ácido lácticas (*Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus*); ambas, bacterias termófilas y homofermentativas. Actualmente, la elaboración de yogurt se encuentra muy diversificada en distintas clases, sin embargo, estas no difieren en lo esencial (en el proceso) (Codex Alimentarius, 2003).

### 2.3.2. Proceso de elaboración de yogurt

Para la fabricación de yogurt, se parte del inóculo de bacterias lácticas en la leche, las cuales determinan la acidificación y la fermentación del producto final; por lo que la calidad del producto, depende en gran medida de la composición y la preparación del cultivo (Spreer, 1991).

De los productos lácteos fermentados, el yogurt tiene una gran demanda en su consumo. Actualmente, las típicas características de consistencia, se determinan como:

- Yogurt consistente o sólido: El gel debe ser consistente y solidificado en el envase final. Se consume preferentemente con la ayuda de una cuchara.
- Yogurt batido: Gel que después de cuajado se realiza un troceo, enfriado y envasado. En el envase se da un incremento de su viscosidad, logrando presentar nuevamente una consistencia casi firme.
- Yogurt líquido o para beber: Es el mismo proceso que el yogurt batido, a diferencia que antes del envasado, se debe transformar por homogeneización en un líquido. De tal forma, que se puede consumir en forma de bebida.

#### 2.3.2.1. Recepción de la leche

Se debe seleccionar la leche más adecuada, que posea un contenido elevado de proteína. No debe contener bacterias nocivas y sustancias como antibióticos, bacteriófagos o agentes estabilizantes (Spreer, 1991).

#### 2.3.2.2. Tratamiento preliminar de la leche

En éste caso, se verifica la calidad de la leche, la cual debe estandarizarse con un contenido de grasa y sólidos totales de la leche. El contenido de grasa en el yogurt, se clasifica en el grupo siguiente (García, 1994).

- Yogurt alto en grasa, 3.0%;
- Yogurt bajo en grasa, 1.5%; y,
- Yogurt libre en grasa, 1.0%.

### 2.3.2.3. Desodorización

Al adicionar los sólidos no grasos (SNG), se produce un gran incorporación de aire; en este caso, es necesario desodorizar la leche en un tanque al vacío. La finalidad de esta etapa, es:

- Eliminar sustancias aromáticas y sápidas indeseables.
- Mejorar los efectos de la homogeneización.
- Mejorar la estabilidad del gel, incrementando la viscosidad.

La temperatura de desodorización, es de 70 – 75 °C; y, a una presión de 70 – 80 KPa., (García, 1994).

### 2.3.2.4. Homogeneización

La finalidad de la homogeneización, es reducir el tamaño de los glóbulos grasos, evitar la separación de la grasa durante la incubación y obtener una mezcla uniforme; además, permite mejorar el sabor e incrementar la consistencia, viscosidad y estabilidad del yogurt. Previniendo la separación del suero, (Ruiz 1990) citado por (Sanchez, 1992).

La homogeneización, permite:

- Reducir el diámetro promedio de los glóbulos de grasa, menor de dos (02) micras ( $\mu\text{m}$ ).
- Mejorar la viscosidad del yogurt por el incremento de la adsorción de las micelas de caseína sobre los glóbulos de grasa,
- Reducir la sinéresis,
- Asegurar en el proceso una mezcla uniforme de cualquier ingrediente seco agregado a la leche.

### 2.3.2.5. Pasteurización

La leche utilizada en el proceso de elaboración del yogurt, debe pasar por un tratamiento térmico, con el propósito de eliminar la flora asociada a la leche, permitiendo un medio adecuado para el crecimiento de las bacterias del yogurt.

Existen dos principales métodos de pasteurización, el de baja temperatura por largo tiempo (el método antiguo de “pasteurización lenta”, 63° C y 30 minutos de retención) y el de alta temperatura por corto tiempo (HTST; 72° C por 15 segundos). La leche pasteurizada no es estéril y poseen un periodo de vida inferior a la semana, limitada a temperaturas de refrigeración. Los procesos más severos que la

pasterización, producen considerables cambios de los caracteres químicos y físicos de la leche.

Las temperaturas de pasteurización altas, por corto tiempo (leche ultra pasteurizada) junto a técnicas de envasado aséptico consiguen un producto libre de sabor a “cosido” y de mayor periodo de vida útil. El proceso Ultra High Temperature (UHT), o leche larga vida, asegura la inactivación casi total de todos los microbios y enzimas, ya que la leche se calienta a 130 – 150 °C durante 2 a 4 segundos seguido de un enfriamiento rápido hasta llegar a temperatura ambiente (Ministerio de Agricultura, 2009).

Los objetivos que tiene la pasteurización, son:

- Asegurar un coágulo firme, reduciendo la separación del suero en el producto (Sanchez, 1992).
- Permitir la destrucción de cualquier microorganismo presente en estado vegetativo, evitando el riesgo de competencia con las bacterias lácticas del yogurt.
- Logar expulsión de oxígeno de la mezcla, proporcionando las condiciones microaerófilas necesarias para el crecimiento de las bacterias lácticas;
- Redistribuir los minerales, especialmente el calcio.
- Permitir la desnaturalización de las proteínas del suero (en especial, la P-lactoglobulina y la  $\alpha$ -lactoalbúmina), que interactúan con la caseína.
- Obtener la desnaturalización de las proteínas del suero, para limitar la sinéresis del coágulo; por tanto, reducir la exudación del suero.

#### **2.3.2.6. Enfriamiento**

Posteriormente, la leche debe enfriarse hasta la temperatura de incubación (de 42 a 45 °C). La actividad de las bacterias, está determinado principalmente por la temperatura de incubación y el porcentaje de inóculo agregado. Estos factores influirán en la acidez final del producto. En sí, mientras mayor sea la diferencia de la temperatura óptima de incubación, y menor la cantidad de inóculo adicionado, mayor será el tiempo de fermentación. En este sentido, la temperatura y tiempo de incubación, así como la cantidad de inóculo adicionado, estarán influyendo en la acidez final del producto yogurt (Spreer, 1991).

### 2.3.2.7. Inoculación e Incubación

El proceso de incubación, se inicia a partir del inóculo (2 a 3%) de los fermentos lácticos a la leche); y, se caracteriza porque en el proceso de fermentación láctica, se produce la coagulación de la caseína de la leche.

La temperatura de incubación, se debe mantener de 40 – 45 °C, en un periodo corto de fermentación (que va de 3 a 4 horas), hasta alcanzar una acidez de 0.80% a 1.20% de ácido láctico; o, un pH de entre 4.41 – 4.5, lo que marca el final de la incubación. A esa temperatura se logra la acidez, la consistencia y el sabor deseado (Spreer, 1991).

Este proceso tiene por objeto proporcionar las condiciones de temperatura y tiempo para que se desarrolle óptimamente el cultivo inoculado, responsable de la fermentación láctica y formación de compuestos responsables del sabor y aroma del yogurt. Tamine & Robinson (1991), indica que la incubación se efectúa óptimamente a una temperatura de 40 a 45 °C, durante 2.5 a 3 horas, hasta que coagule.

Durante la fermentación, la leche debe permanecer en reposo total, para que el gel del yogurt se desarrolle en forma óptima. El gel debe presentar un aspecto del coágulo homogéneo, no debiendo haber una exudación de suero (sinéresis).

De acuerdo al tipo de yogurt a elaborar; y, en función de las instalaciones que se tengan. La incubación y/o fermentación, se puede realizar en:

- Los envases de venta (para yogurt consistente);
- Los tanques de fermentación (para yogurt batido y yogurt para beber);
- Pre fermentación continua en tanques y fermentación principal en los envases (para yogurt consistente); y,
- Fermentación continuo en yogurt consistente, yogurt batido y yogurt para beber (Spreer, 1991).

### 2.3.2.8. Enfriamiento rápido

Una vez obtenido el proceso de fermentación, se debe controlar la actividad metabólica de los cultivos y las enzimas. El enfriamiento del coágulo (de manera rápida), llega a controlar la acidez del producto, reduciendo la actividad metabólica del cultivo; de lo contrario, se tendrá una acidez excesiva. Se aconseja enfriar a valores de acidez de 0.8 a 1.0% de ácido láctico, con la finalidad de obtener el yogurt final a concentraciones de 1.2 a 1.4% de ácido láctico (Tamine & Robinson, 1991).

El enfriamiento se debe realizar con la mayor rapidez posible para evitar que el yogurt siga acidificándose en más de 0.3 unidades de pH, cuando mucho se debe alcanzar una temperatura de 15 °C en 1.5 – 2.0 horas (Gómez, 1999).

Debido a la escasa actividad de los microorganismos del yogurt, a temperaturas de 10 °C aproximadamente, el objetivo del enfriamiento es disminuir la temperatura del coágulo de 30 – 45 °C a menos de 10 °C; y, preferentemente a 5 °C tan rápido como sea posible, para así controlar la acidez final del producto. La finalidad es reducir la actividad metabólica de *S. thermophilus* y *L. bulgaricus*, porque si la refrigeración se retrasa, el yogurt puede ser inaceptable debido a una acidez excesiva (Gómez, 1999).

El proceso de enfriamiento deberá llevarse a cabo de las siguientes formas:

#### **2.3.2.8.1. Enfriamiento en una sola fase**

En éste proceso el coágulo se enfría directamente desde la temperatura de incubación, hasta temperaturas inferiores de 10 °C, antes de proceder a la adición de los agentes aromatizantes y al envasado del producto. El fundamento de éste método, es que el coágulo es más estable a bajas temperaturas que a temperaturas superiores a 20 °C; por lo que, tienen lugar menos alteraciones durante las etapas posteriores, es decir, durante las manipulaciones necesarias para la adición de frutas y aromas, o durante el envasado para la posterior comercialización (Gómez, 1999).

#### **2.3.2.8.2. Enfriamiento de dos fases**

Durante la primera fase del proceso se reduce la temperatura del coágulo, de 30 – 45 °C a 15 – 20 °C, antes de la adición de los aromatizantes y del envasado. La segunda fase de enfriamiento, se realiza en recipientes de refrigeración en las que el yogurt se enfría hasta temperaturas inferiores a 10 °C. El enfriamiento final debe ser por tanto en el envase de comercialización (Gómez, 1999).

La temperatura se disminuye rápidamente a 20 °C, para detener la fermentación y evitar la sobre acidificación; en esta etapa se realiza el batido, la adición de los aromatizantes y el envasado. Si se envasa a temperaturas más bajas, se destruyen las estructuras de las proteínas, y no es posible conformarla otra vez a las temperaturas de almacenamiento (Reyes, 2008).

La temperatura de enfriamiento, debe mantenerse en 5 °C, hasta alcanzar una temperatura de 20 °C en el producto, lo que marca el final del

enfriamiento. A esa temperatura, se recomienda iniciar el proceso de batido del yogurt (Reyes, 2008).

Estos dos tipos de refrigeración son muy utilizados en la industria para la elaboración de yogurt, con la finalidad de obtener características y viscosidad apropiadas.

El enfriamiento final del yogurt, puede hacerse en túneles de enfriamiento o en los envases de venta.

#### **2.3.2.9. Adición de complementos**

El yogurt con frutas o suplementado, se elabora añadiendo al yogurt determinados ingredientes complementarios, que deben ser compatibles (de manera agradable) con el aroma característico del yogurt. Las sustancias añadidas, pueden ser: Jarabes de frutas; Conservas de frutas (esterilizadas); Jaleas de frutas; Pulpas de frutas (edulcorada o no); Extractos de frutas; Frutas conservadas por congelación; Mermeladas; y Azúcar (Tamine & Robinson, 1991).

#### **2.3.2.10. Envasado del yogurt**

En la producción de yogurt, su envasado tiene una gran importancia y su propósito, es:

- Proteger el producto contra la suciedad, microorganismos y el ambiente, gases (oxígeno) y luz;
- Proporciona información relevante al consumidor (nombre y origen del producto, ingredientes, instrucciones de uso, fecha de caducidad, entre otros datos); y,
- El material del envase no debe ser tóxico, asimismo, no debe presentar reacciones químicas entre el material y el yogurt (Tamine & Robinson, 1991).

#### **2.3.2.11. Almacenamiento**

La refrigeración del yogurt a temperaturas inferiores de 10 °C. Permite hasta el momento de su venta, el retraso de las reacciones bioquímicas y biológicas en el producto.

La refrigeración del yogurt, permite conservar la calidad del producto hasta varias semanas después de su fabricación.

Durante las primeras 24 – 48 horas de almacenamiento (en refrigeración), se observa una mejora de las características físicas del coágulo; por lo que, resulta

aconsejable retrasar el reparto y distribución del producto durante éste tiempo (Tamine & Robinson, 1991).

En condiciones normales de producción, el yogurt se debe conservar a temperaturas de almacenamiento refrigerado (5 °C), por un tiempo aproximado de una semana.

Para alargar el tiempo de conservación (de 3 a 4 semanas), pueden utilizarse dos (02) métodos:

- Producción y envasado en condiciones asépticas; y,
- Realizar un segundo tratamiento térmico del yogurt, justo antes de envasar el producto, o ya envasado.

La conservación del yogurt a partir de una doble pasteurización, puede darse a temperaturas más bajas, debido a la acidez (pH bajo) del yogurt.

### **2.3.3. Defectos más comunes presentados en la elaboración de yogurt**

Los defectos más comunes que se presentan en la elaboración de yogurt, se pueden clasificar en tres (03) categorías (defectos de sabor, de aspecto y de textura).

En la Tabla 5, se detallan los defectos más comunes (de sabor, de aspecto y de textura) presentes en la elaboración de yogurt; asimismo, se describen las posibles causas de los mismos.

**Tabla 5.** Defectos en la elaboración de yogurt y sus posibles causas

DEFECTO	Posible causa	Solución
BAJA VISCOSIDAD	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Escaso contenido de proteína en la leche.</li> <li>• Insuficiente tratamiento térmico / homogeneización de la leche.</li> <li>• Agitación demasiado vigorosa</li> <li>• Tratamiento mecánico demasiado vigoroso en la línea de proceso.</li> <li>• Agitación a una temperatura demasiado baja.</li> <li>• Destrucción del coágulo durante la acidificación</li> <li>• Acidificación insuficiente por escaso crecimiento de las bacterias.</li> <li>• Temperatura de incubación baja.</li> <li>• Cultivo</li> <li>• Otras</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Incrementar el porcentaje de proteína en la leche.</li> <li>• Ajustar las condiciones del proceso.</li> <li>• Ajustar el agitador.</li> <li>• Usar bombas mono/positivas, bombear lentamente, caída de presión en las tuberías reducida.</li> <li>• Aumentar la temperatura en la agitación a 20° - 24° C.</li> <li>• Ajustar las condiciones del proceso.</li> <li>• Ajustar la Temperatura de fermentación y/o revisar condiciones de leche.</li> <li>• Ajustar temperatura de incubación a 42° - 43° C.</li> <li>• Escoger cultivos más viscosos</li> <li>• Añadir un estabilizante.</li> </ul>
AIRE EN EL COÁGULO	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Condiciones de almacenamiento deficientes.</li> <li>• Incorporación de aire debido a la mala unión de las tuberías.</li> <li>• Agitación demasiado vigorosa.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Comprobar la temperatura de las cámaras de refrigeración.</li> <li>• Examinar las juntas de las tuberías.</li> <li>• Ajustar el agitador</li> </ul>
SINÉRESIS	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Contaminación por levaduras y/o coliformes.</li> <li>• Demasiado bajo contenido en proteínas / extracto seco</li> <li>• Demasiado bajo contenido de grasa</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Determinar el origen de la contaminación.</li> <li>• Ajustar la composición.</li> <li>• Incrementar el porcentaje de grasa o acidificar a pH 4,3 - 4,1.</li> <li>• Ajustar las condiciones del proceso.</li> </ul>
DULZOR TEXTURA FILANTE	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Insuficiente tratamiento térmico/ homogeneización de la leche.</li> <li>• Incubación a temperatura demasiado alta.</li> <li>• Alto nivel de edulcorantes.</li> <li>• Desequilibrio entre las cepas.</li> <li>• Cultivo filante</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bajar temperatura a 42° C.</li> <li>• Reducir los edulcorantes</li> <li>• Ajustar equilibrio.</li> <li>• Reducir el contenido de proteína. Incrementar el "stress" mecánico (bombeos, agitación). Incrementar la temperatura de fermentación (43° C). Escoger un cultivo menos filante.</li> </ul>
AROMA	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Presencia de Streptococcus con actividad alcohol deshidrogenasa que transforma acetaldehído en etanol.</li> <li>• Aroma insuficiente debido a un desequilibrio a favor de los Streptococcus.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cambiar de cultivo.</li> <li>• Ajustar el equilibrio.</li> </ul>
SABORES EXTRAÑOS	<ul style="list-style-type: none"> <li>• A malta o a levadura.</li> <li>• Graso.</li> <li>• Agrio</li> <li>• Oxidado</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Posible contaminación por levaduras</li> <li>• Contenido en materia grasa demasiado elevado.</li> <li>• Contaminación del cultivo por flora salvaje o coliformes.</li> <li>• Mala protección contra la luz si se emplean vasos de vidrio. Presencia de metales en la leche (hierro, cobre)</li> <li>• Comprobar la calidad de la leche utilizada.</li> </ul>
CAPA DE NATA PRODUCTO SOBRE LA TAPA PRODUCTO NO HOMOGÉNEO	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rancio</li> <li>• Mala o ausencia de homogeneización.</li> <li>• Manejo inadecuado.</li> <li>• Mala agitación (en yogur con frutas).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ajustar o realizar homogeneización.</li> <li>• Cuidado con el manejo.</li> <li>• Agitación adecuada.</li> </ul>

Fuente: Miranda (2011).

### 2.3.4. Características de color del yogurt comercial en el sistema CIEL\*a\*b\*

Las características de color del yogurt comercial, *Berberis boliviana*, FD&C Red 40, Betalaines y Purple Carrot se muestran en la Tabla 6.

**Tabla 6.** Características del color de yogurt comercial y otros

Color Values	Commercial yogurt	Berberis boliviana	FD&C Red 40	Betalaines	Purple Carrot
L*	65	65	71	80	64
a*	10	12	35	11	13
b*	-3.5	-6	4	1	-5
Chroma	10.5	14	35	11	14
Hue Angle	341°	335°	6°	3°	340°

Fuente: Wallace & Giusti (2015).

### 2.3.5. Requisitos microbiológicos para yogurt

**Tabla 7.** Requisitos microbiológicos para Leches fermentadas y acidificadas (yogurt, leche cultivada, cuajada, otros)

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	C	Límite por g	
					m	M
Coliformes	5	3	5	2	10	10 <sup>2</sup>
Mohos	2	3	5	2	10	10 <sup>2</sup>
Levaduras	2	3	5	2	10	10 <sup>2</sup>

Fuente: Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano.

## 2.4. MEDIDA DEL COLOR

La medida del color es extremadamente importante en diversos campos de la ciencia de los alimentos y, estrictamente hablando, una cuestión física más que química. Sin embargo, en el mundo real, quién tiene que ocuparse de este aspecto de la ciencia de los alimentos acaba siendo el químico analítico. Qué aspecto del color vaya a ser medido depende de las circunstancias. Frecuentemente, necesitamos expresar el tono de un producto, un ingrediente o una materia prima en términos cuantitativos. Describir un tomate como “rojo” puede bastar para determinados fines pero expresar de una manera concisa las diferencias de color entre un tomate y una fresa a alguien que nunca ha visto ninguna de estas frutas puede ser un reto imposible, incluso para el más brillante de nuestros poetas. Además el tono, podemos precisar la especificidad de intensidad del color y su “brillo” u “opacidad”, por ejemplo, en los zumos de frutas. Los químicos, ante este tipo de problemas, suelen recurrir al espectrofotómetro (Coulter, 1998).

### 2.4.1. Espectrofotometría

Cuando una luz o energía radiante atraviesa un medio transparente puede ser absorbida, transmitida o reflejada por parte de las moléculas allí presentes. Si esto sucede se dice que este material contiene cromóforos. Estos son aquellas estructuras capaces de absorber esa radiación electromagnética. En la práctica, lo que mide no es propiamente la intensidad de luz absorbida sino otras magnitudes relacionadas con ella como son: la transmitancia y la absorbancia (Choqueza, 2001).

Luz o energía radiante que pasa a través de un medio transparente puede ser absorbida, transmitida o reflejada. En la espectrometría de absorción se considera la cantidad de absorción. La longitud de onda ( $\lambda$ ) se expresa en una de las formas siguientes:

$$\begin{array}{lll} \text{Nanómetro (nm)} & = \text{milimicra (m}\mu\text{)} & = 10^{-6} \text{ mm} \\ \text{Angstrom (}\text{Å}\text{)} & = 10^{-7} \text{ mm} & = \text{m}\mu\text{/10} \end{array}$$

#### 2.4.1.1. Rangos de medidas de longitud de onda.

Ultravioleta, 185-400 nm	: utiliza absorciómetro UV.
Visible, 400-760 nm	: utiliza absorciómetro con filtros coloreados (Tabla 8) ó espectrofotómetro.
Infrarrojo, 0.76-15 m $\mu$	: utiliza espectrofotómetro infrarrojo (Pearson, 1993).

**Tabla 8.** Filtros para absorciometría

Longitud de onda	Color del filtro	Color observado
400	Violeta	Amarillo Verdoso
425	Indigo-Azul	Amarillo
450	Azul	Naranja
490	Azul-Verde	Rojo
510	Verde	Púrpura
530	Amarillo-Verde	Violeta
550	Amarillo	Indigo-Azul
590	Naranja	Azul
640	Rojo	Verde Azulado
730	Rojo intenso	Verde

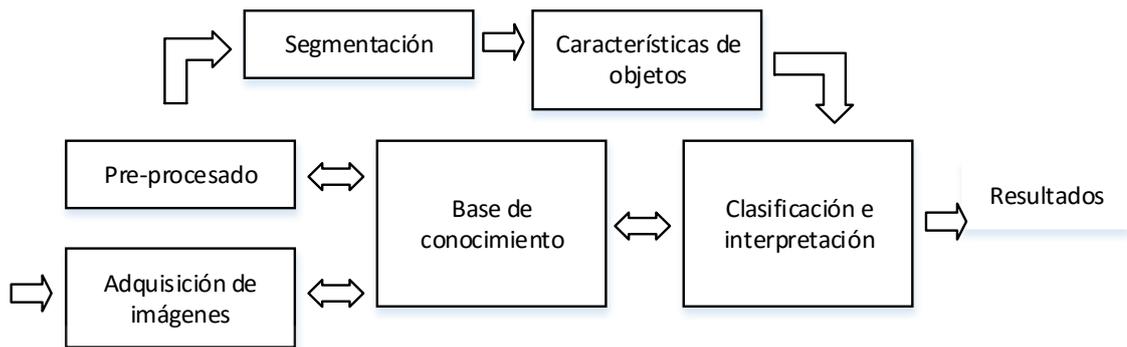
Fuente: Pearson (1993).

#### 2.4.2. Análisis de imágenes

El análisis de imágenes combina técnicas que calculan estadísticas y mediciones basándose en la intensidad de escala de grises de los píxeles de la imagen. Se puede usar las funciones de análisis de imagen para determinar si la calidad de imagen es suficiente buena para la tarea de inspección. También se puede analizar una imagen para comprender su contenido y para decidir qué tipo de herramientas de inspección utilizar para manejar la aplicación. Las funciones de análisis de imágenes también proveen mediciones que pueden usarse para realizar tareas de inspección básicas, tales como presencia o ausencia de verificación. Las herramientas normales que pueden utilizarse para el análisis de imágenes incluyen los histogramas, perfiles de línea y mediciones de intensidad (Tracnova, 2005).

#### 2.4.3. Etapas de procesamiento de imágenes

El proceso de análisis de imágenes consta de cinco etapas descrito por Du & Sun (2004), como se muestra en la Figura 4, que es (1) operaciones de adquisición de imagen para convertir imágenes en forma digital; (2) pre-procesamiento operaciones para obtener una imagen mejorada con las mismas dimensiones como la imagen original; (3) las operaciones de segmentación de imagen para dividir en partes un imagen digital en regiones disjuntas y poco imbricadas; (4) las operaciones de medida del objeto para medir las características de objetos, como el tamaño, la forma, el color y la textura; y (5) las operaciones de clasificación e interpretación de características.



**Figura 4.** Diagrama del proceso de Análisis de imágenes (Du & Sun, 2004).

#### 2.4.3.1. Adquisición de imágenes

El proceso se inicia con la etapa de adquisición de imágenes, donde el objeto en estudio es capturado y almacenado en el computador. Cuando se adquieren imágenes, es importante considerar el efecto de iluminación, ya que el nivel de gris de los píxeles está determinado no sólo por las características físicas de la superficie, sino también por esos dos parámetros (Pedreschi, León, Mery, & Moyano, 2006).

#### 2.4.3.2. Pre-Procesamiento de Imagen

A través del pre-procesamiento, la calidad de las imágenes digitales es mejorada antes de que sean analizadas. Algunas de las técnicas empleadas en el pre-procesamiento son eliminación de ruidos de la imagen o mejora del contraste a través del filtrado digital, problemas que son causados por deficiencias en la iluminación. Además, en esta etapa la imagen en color se convierte en una imagen en escala de grises, con la finalidad de mejorar la calidad de la imagen (Castleman, 1996).

#### 2.4.3.3. Segmentación de Imágenes

La segmentación subdivide una imagen en sus partes constituyentes u objetos, con el fin de separar las partes de interés del resto de la imagen, por lo tanto el nivel al que se lleva a cabo esta subdivisión depende del problema a resolver. En el proceso de detectar las partes en una imagen se identifican bordes de la imagen, o se segmenta está en regiones, líneas o curvas, etc. Otra definición considera a la segmentación como la clasificación de los puntos de la imagen (píxeles), indicando las clases a la que pertenecen los diferentes píxeles. Los atributos básicos de segmentación de una imagen son: la luminancia en imágenes monocromáticas, los componentes de color en imágenes en color, textura, forma, etc. (Gonzalez & Woods, 1996).

La intensidad de la imagen se utiliza para identificar regiones disjuntas de la imagen con el fin de separar la parte de interés del fondo. Esta imagen segmentada es una imagen binaria compuesta sólo de píxeles blanco y negro, donde “0” (negro) y “1” (blanco) significan fondo y objeto, respectivamente (Morales, 2008).

#### 2.4.3.4. Extracción de Características

Cuevas et al., (2010) mencionan que un objeto “0” de una imagen binaria puede ser interpretada como una distribución de puntos de valor uno  $X_i=(x,y)$  en una rejilla bidimensional, esto es:

$$0 = \{(x_1, x_2, \dots, x_N)\} = \{(x_1, y_1), (x_2, y_2), \dots, (x_N, x_N)\}$$

#### 2.4.4. Características de color

El color y su uniformidad son componentes vitales de la calidad visual de los alimentos frescos y tienen un papel muy importante en la elección del consumidor. Sin embargo, pueden tener menos importancia a baja temperatura en el caso de las materias primas para el procesado. En los tratamientos a baja temperatura tales como el enfriamiento, la congelación o la liofilización, el color cambia poco durante el procesado, y por ello el color de las materias primas representa una buena guía en cuanto a su utilidad para el procesado. En casos de procesos largos, el color cambia claramente durante la cocción. Por ejemplo algunas frutas pierden su color durante el enlatado, mientras que las peras adquieren un tinte rosado. Por esto, algunos productos se presentan mejor a la fritura en la que el pardeamiento es deseable, que al enlatado en que el pardeamiento constituirá un gran problema (Brennan, 2008).

#### 2.4.5. Imágenes RGB

Cuevas et al., (2010), describen el modelo de color RGB, basándose en la combinación de los colores primarios rojo (R), verde (G) y azul (B). El origen de este modelo se encuentra en la tecnología de la televisión y puede ser combinada como la representación fundamental del color en las computadoras, cámaras digitales y escáneres, así como en el almacenamiento de imágenes. La mayoría de los programas para el procesamiento de imágenes y de representación gráfica utilizan este modelo para la representación interna del color.

El modelo RGB es un formato de color aditivo, lo que significa que la combinación de colores se basa en la adición de los componentes individuales considerando como base el negro. Este proceso puede imaginarse como el traslape de 3 rayos de luz de colores rojo, verde y azul. La intensidad de los diferentes componentes de color determina tanto el tono como la iluminación de color resultante. El blanco y el

gris o tonalidades de gris son producidos de igual manera a través de la combinación de los tres correspondientes colores primarios RGB (Cuevas, Zalvivar, & Pérez, 2010).

El modelo RGB forma un cubo, cuyos ejes de coordenadas corresponden a 3 colores primarios R, G y B. Los valores RGB son positivos y sus valores se encuentran restringidos al intervalo de  $[0, V_{\max}]$ , en donde normalmente  $V_{\max}=255$ , cada posible color  $C_i$  corresponde a un punto dentro del cubo RGB, con los componentes: (Cuevas, Zalvivar, & Pérez, 2010).

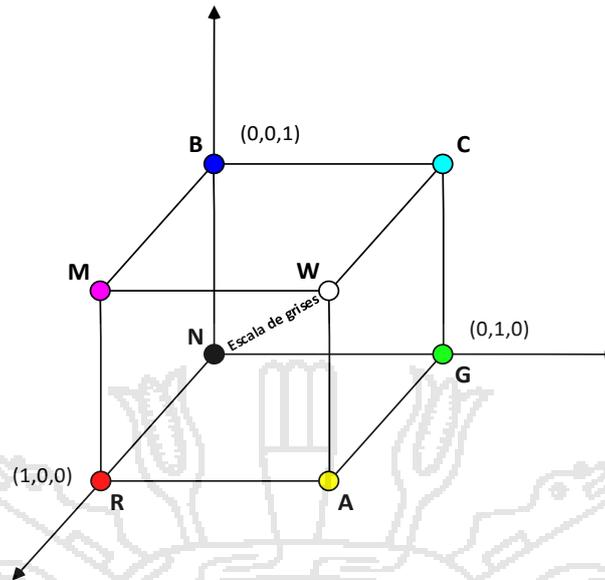
$$C_i = (R_i, G_i, B_i)$$

Donde  $0 \leq R_i, G_i, B_i \leq V_{\max}$ . Normalmente el intervalo de valores de los componentes de color son normalizados al intervalo  $[0,1]$  como se muestra en la Tabla 8, de tal forma que el espacio de colores quedaría representado por el cubo unitario mostrando en la Figura 5. El punto N = (0, 0, 0) corresponde al negro, W = (1, 1, 1) corresponde al blanco y todos los puntos que se encuentran en la línea entre S y W son las tonalidades a escala de grises donde los componentes R, G y B son iguales.

**Tabla 9.** Valores de las coordenadas en cubo de color

Punto	Color	R	G	B
N	Negro	0	0	0
R	Rojo	1	0	0
A	Amarillo	1	1	0
G	Verde	0	1	0
C	Cyan	0	1	1
B	Azul	0	0	1
M	Magenta	1	0	1
W	Blanco	1	1	1
K	Gris	0.5	0.5	0.5

Fuente: Cuevas et al. (2010).



**Figura 5.** Cubo unitario (Cuevas, Zalvivar, & Pérez, 2010).

Figura 5. Representación del espacio de color RGB como cubo unitario. Los colores primarios rojo (R), verde (G) y azul (B), cian (C), magenta (M) y amarillo (A) se encuentran ubicados en las esquinas del cubo de color. Todos los valores de intensidad de grises, tal como (K) se ubican sobre la diagonal trazada de (N) a (W) (Cuevas, Zalvivar, & Pérez, 2010).

#### 2.4.6. Modelo de color HSL

El modelo de color HSL (Tonalidad, Luminancia y Saturación; “Hue”, “Luminance”, “Saturation”) los parámetros de luminancia y saturación corresponden al eje vertical y al radio que se establece entre el eje de luminancia y el valor del color en cuestión. La representación de este modelo HSL, que es común encontrar es la de la doble pirámide. Donde los puntos negros y blancos en este modelo se encuentran ubicados en la parte baja y alta de la pirámide. Los colores básicos rojo, verde y azul así como sus combinaciones se encuentran ubicados en la base donde se juntan ambas pirámides (Gonzales & Woods, 2002).

La componente H es la tonalidad, es el ángulo en la etapa cercano al “rueda de color”. La componente S representa la saturación, es la distancia del centro hasta la rueda. Este describe el grado al cual un color puro es diluido por la luz blanca (0 - 1). La luminancia L indica la luminosidad de la imagen. Esto es ortogonal a (H, S) y marca la rueda del color por un doble cono como estos ápices negro (Luminancia es 0) y blanco (Luminancia es 255) (Medina, Skurtys, & Aguilera, 2010).

### 2.4.7. Espacio CIELAB

El espacio CIELAB está adaptado también como norma UNE, y en él se definen unas magnitudes colorimétricas que se derivan matemáticamente de los valores triestímulo y pueden considerarse una respuesta de los observadores patrones a un estímulo luminoso. Tratando de imitar a los observadores reales, estas respuestas se hacen depender del tipo de estímulo y del blanco de referencia.

Los estímulos dependientes aparecen a los observadores reales como estímulos no autoluminosos, es el caso de cualquier superficie o material no emisor de luz. Como blanco de referencia se tomará el difusor perfecto cuyos valores triestímulo son los del iluminante utilizado y se designan  $X_n$ ,  $Y_n$ ,  $Z_n$ . El espacio de color CIELAB es un sistema coordinado cartesiano definido por tres coordenadas colorimétricas  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  magnitudes adimensionales que se definen de las siguientes ecuaciones: correspondiendo el subíndice  $n$  al blanco de referencia, que en el caso de los vinos es agua destilada, lo que da en el cálculo el iluminante C según el método oficial (CIE 15, 2004).

$$L^* = 116 \left( \sqrt[3]{\frac{Y}{Y_n}} - 0.1379 \right)$$

$$a^* = 500 \left( \sqrt[3]{\frac{X}{X_n}} - \sqrt[3]{\frac{Y}{Y_n}} \right)$$

$$b^* = 200 \left( \sqrt[3]{\frac{Y}{Y_n}} - \sqrt[3]{\frac{Z}{Z_n}} \right)$$

En el caso en que el cociente  $Y/Y_n$  (factor de luminancia) sea igual o menor que 0.008856 (muestras muy oscuras) el cálculo de las coordenadas colorimétricas se realizará con las expresiones siguientes:

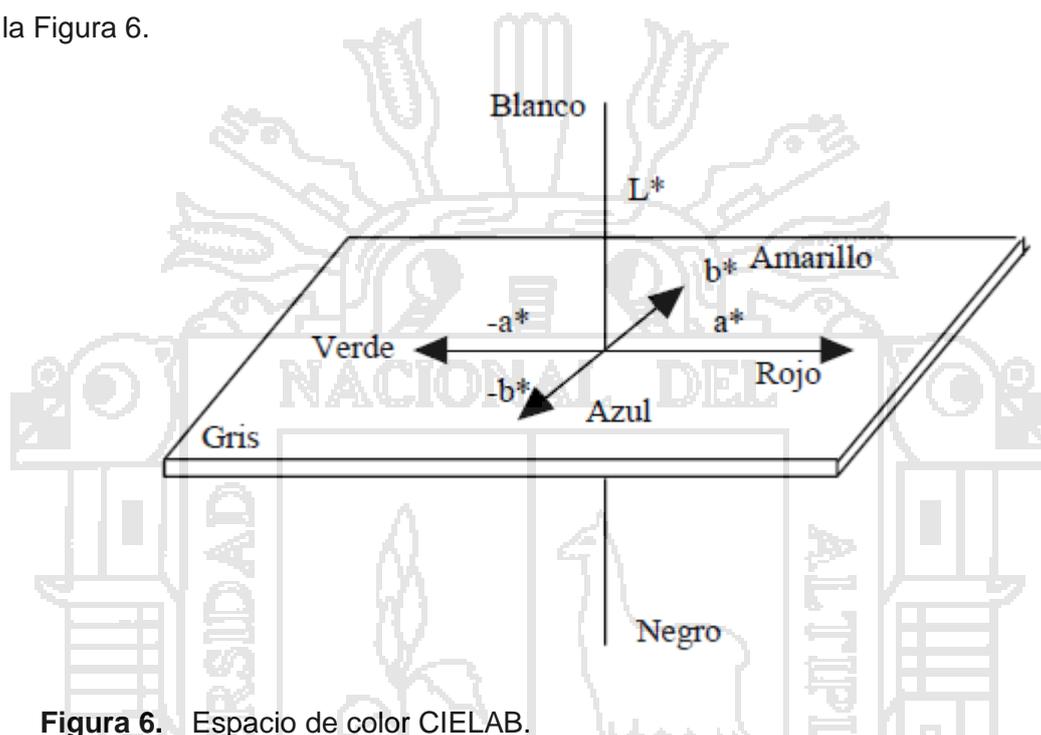
$$L^* = 903.292 \left( \frac{Y}{Y_n} \right)$$

$$a^* = 3893.5 \left( \frac{X}{X_n} - \frac{Y}{Y_n} \right)$$

$$b^* = 1557.4 \left( \frac{Y}{Y_n} - \frac{Z}{Z_n} \right)$$

La coordenada  $L^*$  recibe el nombre de Claridad y puede tomar valores entre 0 y 100, para estímulos independientes toma siempre el valor 100 y no sirve para su especificación.

Las coordenadas colorimétricas  $a^*$  y  $b^*$  forman un plano perpendicular a la Claridad. La coordenada  $a^*$  define la desviación del punto acromático correspondiente a la Claridad, hacia el rojo si  $a^* > 0$ , hacia el verde si  $a^* < 0$ . Análogamente la coordenada  $b^*$  define la desviación hacia el amarillo si  $b^* > 0$ , hacia el azul si  $b^* < 0$ , como muestra la Figura 6.



**Figura 6.** Espacio de color CIELAB.

El conjunto  $a^*$ ,  $b^*$  recibe el nombre de Cromaticidad y junto con la Claridad definen el color de un estímulo. Se corresponde con el término cromaticidad  $(x,y)$  y como él ni indica explícitamente el tono y la saturación. Este inconveniente puede resolverse definiendo dos magnitudes colorimétricas nuevas a través de las expresiones siguientes:

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}$$

$$h^* = \arctg\left(\frac{b^*}{a^*}\right)$$

El Cromo,  $C^*$ , tiene el valor 0 para estímulos acromáticos y, por lo general, no pasa de 150 aunque puede superar ese valor para estímulos monocromáticos. El Tono angular,  $h^*$ , varía entre  $0^\circ$  y  $360^\circ$  y para estímulos acromáticos ( $a^* = 0$ ,  $b^* = 0$ ) es una magnitud no definida. Ambos términos también definen la cromaticidad del color del

estímulo y junto con la claridad determinan las coordenadas cilíndricas del espacio CIELCH (CIE 15, 2004).



### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

El presente trabajo de investigación se realizó en los siguientes lugares;

- Laboratorio de Post Cosecha de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Altiplano.
- Laboratorio de Ingeniería de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Altiplano.
- Laboratorio de Microbiología de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Altiplano, ubicados a una altitud de 3824 m.s.n.m.

#### 3.2. MATERIAL EXPERIMENTAL

- Colorante de semillas secas de Ayrampo (*Tunilla soehrensii* Britt and Rose) con 4.77% de humedad, proveniente del Distrito de Cabanillas, Provincia de San Román, Región de Puno. Los frutos fueron cosechados el 03 de abril del 2015, se extrajo las semillas del fruto y se realizó el secado de semillas durante 4 días ver (Anexo 64 – Imagen 1).
- Leche fresca con 1.0286 g/ml de densidad, adquirida del mercado central de Puno, proveniente del Distrito de Paucarcolla, Provincia de Puno.
- Cultivo Láctico SACCO Lyofast Y456B.

#### 3.3. MATERIALES, EQUIPOS E INSTRUMENTOS

##### 3.3.1. Equipos e instrumentos

- Balanza Digital, Sartorius CP323S Max 320 g. d = 0.001g.
- Baño maría MEMMERT capacidad 10 L, Rango 5 – 125 °C.
- LAB INCUBATOR, IN-601.
- Cronómetro SAMSUNG.
- Colorímetro Portable Color Difference Meter SC20.
- Termómetro con funda de aluminio con rango de -15 °C a 105 °C.
- Refrigeradora COLDEX Capacidad 265 L.
- Batidora eléctrica Oster.
- Autoclave Model LS-B50L-II, Serie N 186, Vessel volume: 50 L, Max. Working temperatura: 134 °C, Max. Working pressure: 0.22 Mpa, Power: AC 220 V 60 Hz/3 kw.

- Sistema de adquisición de imágenes.
- Cámara fotográfica digital marca Sony de 16.1 mega pixeles.

### 3.3.2. Materiales laboratorio

- Envases de vidrio con capacidad de 200 ml.
- Envases de vidrio con capacidad de 30 ml.
- Matraces Erlenmeyer de 250 ml.
- Pipeta graduada de 1 y 10 ml.
- Probeta graduada de 10 y 100 ml.
- Fiola de 100 y 1000 ml.
- Vasos precipitado de 250 y 1000 ml.
- Etiquetas autoadhesivas para rotular.
- Marcador permanente.
- Lámina de aluminio.
- Lactodensímetro.
- Filtro.
- Placas Petri.
- Tubos de ensayo con tapa.
- Mechero de alcohol.
- Gradilla para 60 tubos.

### 3.3.3. Medios de cultivo

- Agar MacCONKEY.
- Agar OGYE, Base. Según ISO para microbiología.

### 3.3.4. Software

- Camera Control Pro 2.
- ImageJ 1.48 (Image Processing Program).
- Excel 2013.
- OriginPro 8J.

### 3.4. METODOLOGÍA DEL PROCESO EXPERIMENTAL

El trabajo de investigación se realizó de acuerdo a las siguientes etapas:

- a. En la primera etapa se realizó la coloración de la leche fresca con semillas de ayrampo (*Tunilla soehrensii* Britt & Rose) a una temperatura constante de 30 °C de la leche, la relación entre semilla y leche fueron (2 g/1L, 4 g/1L y 6 g/1L). Los cuales se combinaron con los tiempos de inmersión de las semillas en la leche de (3 min, 6 min y 9 min), haciendo un total de nueve tratamientos.
- b. En la segunda etapa se realizó la pasteurización de la leche coloreada con semillas de ayrampo (*Tunilla soehrensii* Britt & Rose) del tratamiento 3 (2 g/1L; 9 min) de la primera etapa, el cual se sometió a tres procesos de pasteurización (63 °C/1800s, 72 °C/15s y 89 °C/1s).
- c. En la tercera etapa se realizó el seguimiento en almacenado del (yogurt con colorante) del proceso de pasteurización 3 (89 °C/1s) y una muestra control (yogurt sin colorante). Se tomaron datos en los siguientes tiempos (0 días, 8 días y 15 días) después del envasado del yogurt.
- d. Se realizó el análisis microbiológico del yogurt (con y sin colorante) a los 6 días de almacenado.

#### 3.4.1. Proceso de coloración

Para determinar el efecto de coloración de la leche fresca se procedió a seguir cuidadosamente la secuencia de operaciones mostrado en la Figura 7.

##### Descripción de operaciones

##### **A. Leche fresca**

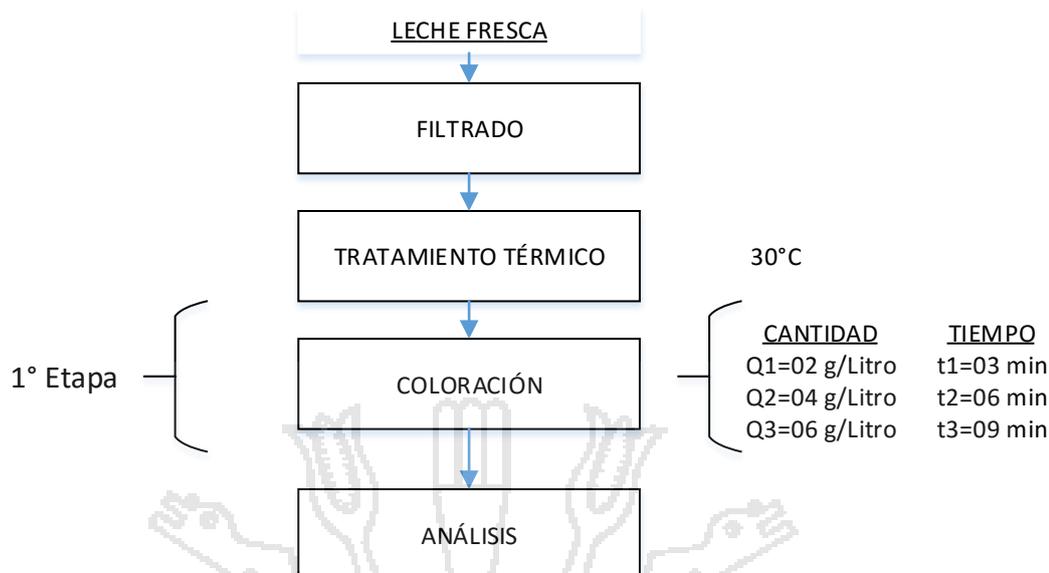
La leche fresca total para este proceso fue de 2 Litros el cual se determinó su densidad con un lactodensímetro y también se tomó la temperatura para corregir la densidad a 20 °C.

##### **B. Filtrado**

Se filtró la leche fresca, luego se separó 200 ml para cada tratamiento en vasos precipitados de 250 ml de capacidad.

##### **C. Tratamiento térmico**

En este proceso se incrementó la temperatura hasta los 30 °C (Soriano, 2001) y (Gamarra, Chirinos, & Campos, 2004), en un equipo de baño maría, la leche se colocó en vasos precipitados de 250 ml. Esta temperatura se mantuvo hasta terminar el proceso de coloración.



**Figura 7.** Flujograma para el análisis del efecto de la coloración.

#### D. Coloración

Se realizó por inmersión de las semillas de ayrampo previamente pesados (0.400, 0.800 y 1.200 g/200 ml), por cada tiempo de contacto (3, 6 y 9 minutos), agitación manual con varilla de vidrio. Pasado el tiempo de contacto entre las semillas de ayrampo y leche, se filtró la leche separando las semillas de ayrampo. Luego se envasó la leche coloreada en envases de vidrio con capacidad de 200 ml para luego realizar el análisis de color.

#### 3.4.2. Proceso de pasteurización

Para determinar el efecto de la pasteurización de la leche coloreada se siguió la siguiente secuencia de operaciones mostrado en la Figura 8.

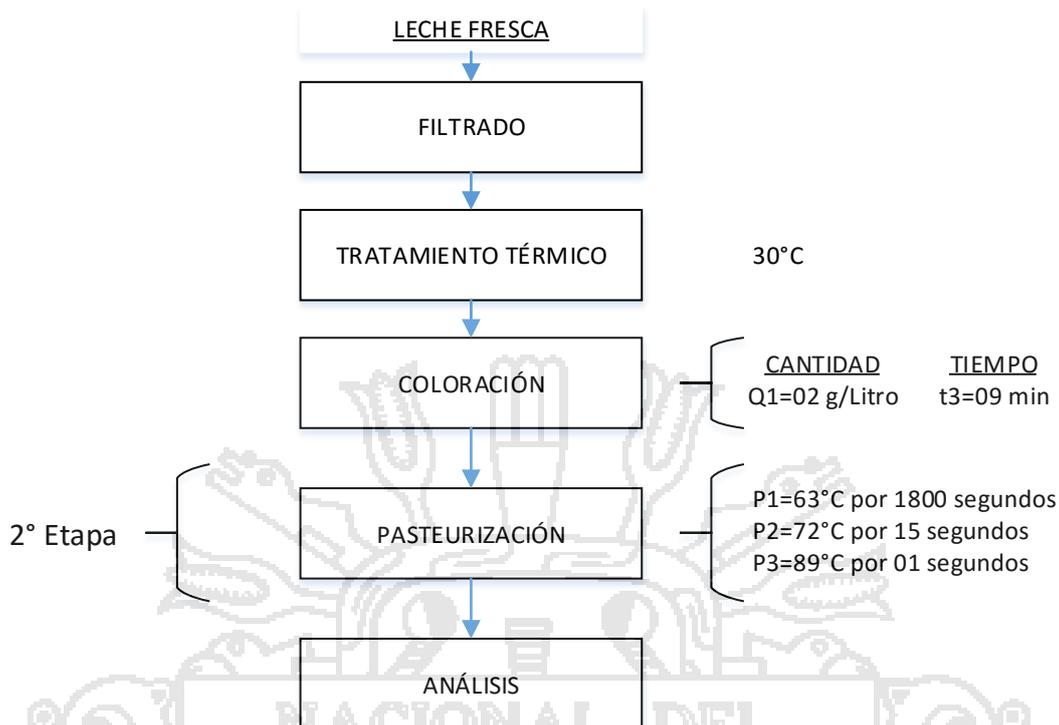
##### Descripción de operaciones

#### A. Leche fresca

La leche fresca total para este proceso fue de 1 Litro el cual se determinó su densidad con un lactodensímetro y también se tomó la temperatura para corregir la densidad a 20 °C.

#### B. Filtrado

Se filtró la leche fresca, luego se puso en un vaso precipitado de 1000 ml de capacidad.



**Figura 8.** Flujograma para el análisis del efecto de la pasteurización.

### C. Tratamiento térmico

En este proceso se incrementó la temperatura hasta los 30 °C en baño maría en el vaso precipitado de 1000 ml.

### D. Coloración

Se realizó por inmersión de las semillas de ayrampo previamente pesados (2 g de semillas de ayrampo por 1000 ml de leche), por un tiempo de contacto de 9 minutos, agitación manual con varilla de vidrio. Pasado el tiempo de contacto entre las semillas de ayrampo y leche, se filtró la leche separando las semillas de ayrampo. Luego se separó tres muestras de 200 ml cada uno en vasos de precipitado de 250 ml de capacidad.

### E. Pasteurización

Se realizó en autoclave en vasos precipitados de 250ml tapados con lamina de aluminio a temperaturas y tiempos de (63 °C/1800s, 72 °C/15s y 89 °C/1s) para las tres muestra de 200 ml de leche coloreada por separado. Una vez terminado el proceso de pasteurización se sacó del autoclave se enfrió a temperatura ambiente ( $17 \pm 1$  °C) y se envasó en envases de vidrio de 200 ml cada muestra. Luego se realizó el análisis del color a cada muestra.

### **3.4.3. Proceso para obtener la estabilidad del yogurt con colorante de ayrampo en el almacenamiento**

Para determinar el efecto del tiempo de almacenamiento en la estabilidad del yogurt con colorante de ayrampo se siguió la siguiente secuencia de operaciones mostrado en la Figura 9.

#### **Descripción de operaciones**

##### **A. Leche fresca**

La leche fresca total para este proceso fue de 2 Litros el cual se determinó su densidad con un lactodensímetro y también se tomó la temperatura para corregir la densidad a 20 °C.

##### **B. Filtrado**

Se filtró la leche fresca, luego se puso en dos vasos precipitado de 1000 ml de capacidad por separado uno para realizar la coloración y otro para el control.

##### **C. Tratamiento térmico**

En este proceso se incrementó la temperatura hasta los 30 °C en baño maría en el vaso precipitado de 1000 ml, esta operación no se realizó para el control.

##### **D. Coloración**

Se realizó por inmersión de las semillas de ayrampo previamente pesados (2 g de semillas de ayrampo por 1000 ml de leche), por un tiempo de contacto de 9 minutos, agitación manual con varilla de vidrio. Pasado el tiempo de contacto entre las semillas de ayrampo y leche, se filtró la leche separando las semillas de ayrampo, para luego pasar al siguiente proceso.

##### **E. Pasteurización**

Se realizó en autoclave en vasos precipitados de 1000 ml tapados con lamina de aluminio a temperatura y tiempo de (89 °C/1s) para las dos muestra de 1000 ml de leche coloreada y el control ambos. Una vez terminado el proceso de pasteurización se sacó del autoclave y se sacaron las láminas de aluminio para medir la temperatura en el siguiente proceso.

##### **F. Enfriado a temperatura de inoculación**

Se realizó en baño maría y agitación manual, ambas muestras al mismo tiempo hasta llegar a la temperatura de 43 °C. Una vez terminado el proceso se sacó del baño maría.

### **G. Inoculación**

Se realizó con cultivo fabricado por SACCO el cual fue previamente activado en leche evaporada a 43 °C en una incubadora 1 hora antes de la inoculación. Una vez activada el cultivo se mezcló con la leche pasteurizada enfriada a 43 °C. Esta operación se realizó para ambas muestras.

### **H. Incubación**

Se realizó la incubación a 43 °C por 6 horas, ambas muestras fueron tapados con lámina de aluminio durante este proceso. Este proceso se realizó en vasos precipitados de un litro de capacidad.

### **I. Enfriado**

Se realizó en una refrigeradora hasta una temperatura de 10 °C. Esta operación se realizó para ambas muestras de yogurt.

### **J. Batido**

Se realizó con una batidora eléctrica por 1 minuto aproximadamente para cada muestra de yogurt.

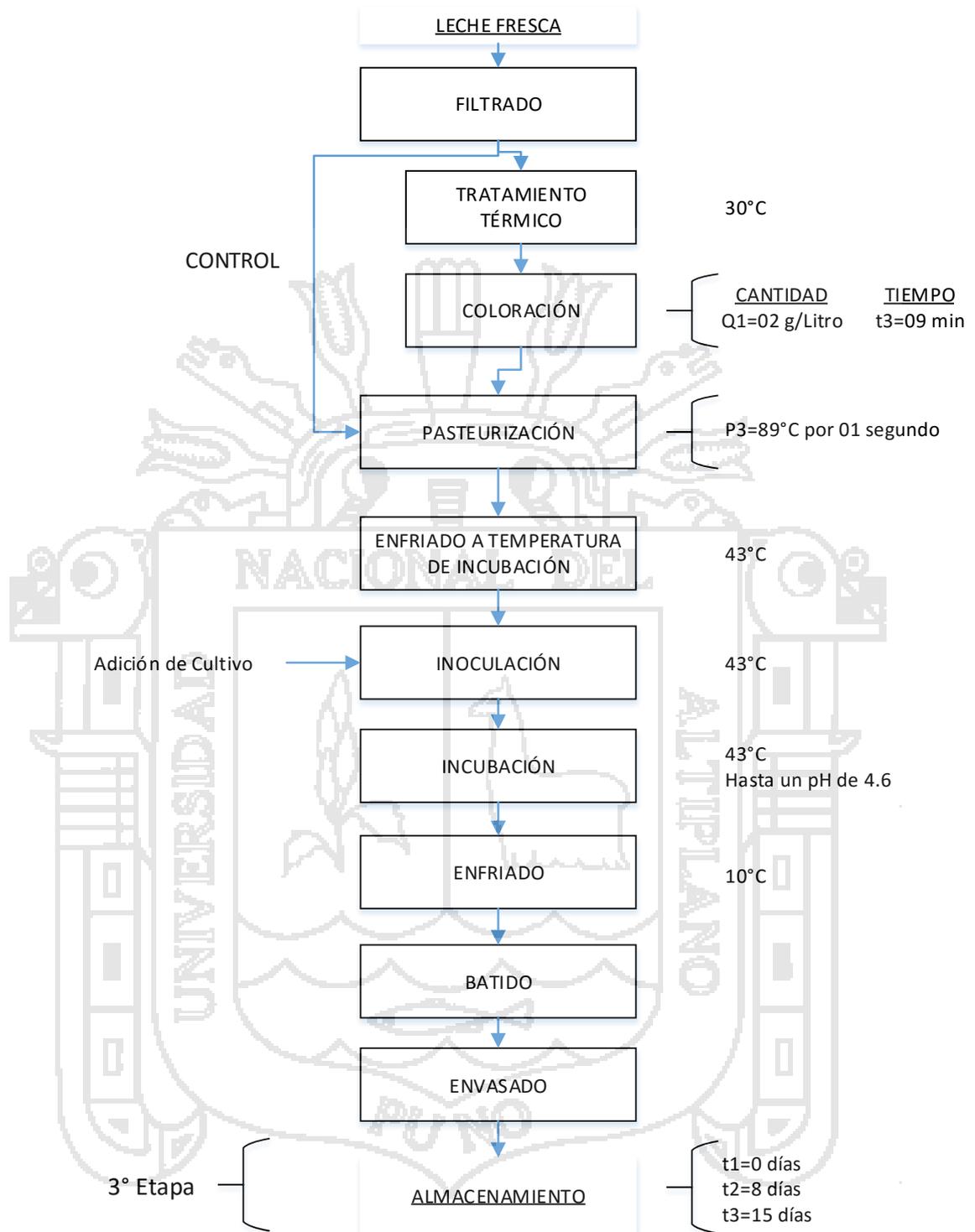
### **K. Envasado**

Se realizó en envases de vidrio de 200 ml de capacidad los cuales fueron protegidos de la luz con lámina de aluminio. Se envasó 190 ml de yogurt por envase. Luego se realizó el análisis del color a cada muestra.

### **L. Almacenamiento**

Los envases contenidos con yogurt se almacenaron en un refrigerador a 5 °C. Los cuales fueron sacándose según el tiempo (0, 8 y 15 días) para su análisis.

Para el análisis microbiológico se extrajo dos muestras M1 (Yogurt con colorante) y M2 (Yogurt sin colorante), a los 6 días de almacenado.



**Figura 9.** Flujograma para la elaboración y almacenado de yogurt.

### 3.5. MÉTODOS DE ANÁLISIS

#### 3.5.1. Determinación de color

Se realizó al final de la primer y segunda etapa (Coloración y Proceso de pasteurización), para la tercera etapa (Almacenamiento) se tomaron tres datos. Los cuales se hicieron con el colorímetro SC20 y mediante imágenes.

##### A. Determinación de color CIEL\*a\*b

Se utilizó 30 ml de muestra para cada tratamiento en todas las etapas. Estas muestras se acondicionaron en un recipiente de vidrio de 30 ml de capacidad, luego se realizó la toma de datos en los parámetros (%L, C, H°), según el manual de operaciones del colorímetro Portable Color Difference Meter SC20, ver Anexo 62.

##### B. Determinación de color RGB

Se utilizó 10 ml de muestra en un recipiente de color negro. Se tomaron las fotos con el Sistema de adquisición de imágenes. Las medidas de color en escala RGB: (R) rojo, (G) verde y (B) azul fueron extraídos utilizando el Software ImageJ. (Abramoff, Magelhaes, & Ran, 2004).

Para convertir las medidas de color (R, G, B) al modelo (H, S, L), se insertaron en una hoja de cálculo Excel programada en Macros, ver Anexo 61 y 69.

#### 3.5.2. Análisis microbiológico

Se realizó a los 6 días después del inicio de almacenado de las muestras de yogurt con colorante (M1) y sin colorante (M2), según la metodología descrita en la FAO/OMS/Bacteriological Analytical Manual Foods 1975 4ta Edición Food and Drug Administration USA citado por (Medina L. , 1997).

##### A. Preparación de Agares

###### a. Coliformes

Se utilizó el agar MacCONKEY, el cual se preparó 65ml en un Matraz Erlenmeyer para 4 placas. La solución de agar se llevó al autoclave para esterilizar y luego se vertió 15 ml a cada placa. Luego se deja solidificar una vez solidificado ya está listo para sembrar o verter la muestra de yogurt.

###### b. Mohos y levaduras

Se utilizó el agar OGYE base, el cual se preparó 65 ml en un Matraz Erlenmeyer para 4 placas. La solución de agar se llevó al autoclave para esterilizar y luego se vertió 15 ml a cada placa. Luego se deja solidificar una vez solidificado ya está listo para sembrar o verter la muestra de yogurt.

**B. Preparación de muestras, sembrado e incubado****a. Homogenización y dilución**

Se prepara solución reguladora de Peptona al 1%. Se toma muestra aseptícamente. En seguida en un tubo de ensayo se procede a mezclar 1 ml de yogurt con 9 ml de solución reguladora de peptona al 1% (dilución 1:10).

El alimento homogenizado, del tubo de ensayo, se toma con una pipeta estéril 1 ml de la muestra homogenizada y luego se vierte en un tubo de ensayo que contiene 9 ml de solución reguladora de peptona al 1%, se mezcla cuidadosamente, la cual da una dilución 1:100; con otra pipeta estéril se toma 1 ml de la primera dilución y se vierte en otro tubo que contiene 9 ml de solución reguladora de peptona al 1% se mezcla suavemente y se obtiene la dilución 1:1000; se repite la misma operación hasta tener el número requerido de diluciones 1:10; 1:100; 1:1000; 1:10000 respectivamente.

**b. Siembra**

Se sembró 1ml de muestra por cada placa tanto para coliformes, mohos y levaduras de las diluciones de 1:1000 y 1:10000.

**c. Incubado**

Se incubó a 37 °C las placas para coliformes por un tiempo de 24 a 48 horas.

Se incubó a 28 °C las placas para mohos por un tiempo de una semana y para las levaduras por un tiempo de 24 a 48 horas.

**C. Recuento de colonias**

Transcurrido el tiempo de incubación se contaron todas las colonias y se anotaron los resultados por cada dilución para realizar los cálculos.

### 3.6. FACTORES EN ESTUDIO

Los diseños experimentales empleados en el presente trabajo de investigación se detallan a continuación:

#### 3.6.1. Coloración (Etapa 1)

##### a. Factores de estudio

- Tiempo de contacto del ayrampo (t)
  - $t_1 = 03$  minutos
  - $t_2 = 06$  minutos
  - $t_3 = 09$  minutos
- Cantidad de ayrampo (Q)
  - $Q_1 = 02$  g/Litro de leche
  - $Q_2 = 04$  g/Litro de leche
  - $Q_3 = 06$  g/Litro de leche

##### b. Variable de respuesta

- Color
  - (%L, C, H°)
  - (H, S, L)

**Tabla 10.** Tratamientos del proceso de coloración de la leche

FACTORES		TRATAMIENTOS	REPETICIONES			
CANTIDAD	TIEMPO		R1	R2	...	R8
Q1=2g/L	t1=3 min	T1=(2g/L, 3 min)				
	t2=6 min	T2=(2g/L, 6 min)				
	t3=9 min	T3=(2g/L, 9 min)				
Q2=4g/L	t1=3 min	T4=(4g/L, 3 min)				
	t2=6 min	T5=(4g/L, 6 min)				
	t3=9 min	T6=(4g/L, 9 min)				
Q3=6g/L	t1=3 min	T7=(6g/L, 3 min)				
	t2=6 min	T8=(6g/L, 6 min)				
	t3=9 min	T9=(6g/L, 9 min)				

#### 3.6.2. Estabilidad al Tratamiento Térmico (Pasteurización Etapa 2)

##### a. Factores de estudio

- Proceso de pasteurización (P)
  - $P_1 = 63$  °C/1800 segundos
  - $P_2 = 72$  °C/15 segundos
  - $P_3 = 89$  °C/01 segundo

**b. Variable de respuesta**

- Color
  - (%L, C, H°)
  - (H, S, L)

**Tabla 11.** Procesos de pasteurización de la leche coloreada

PROCESOS	REPETICIONES			
	R1	R2	...	R8
P1=63°C/1800 s.				
P2=72°C/15 s.				
P3=89°C/1 s.				

**3.6.3. Estabilidad en almacenamiento (ETAPA 3)**

**a. Factores en estudio**

- Tiempo de almacenamiento (t)
  - t<sub>1</sub> = 0 días
  - t<sub>2</sub> = 08 días
  - t<sub>3</sub> = 15 días

- Colorante (C)
  - c<sub>1</sub> = Con Colorante
  - c<sub>2</sub> = Sin Colorante

**b. Variable de respuesta**

- Color
  - (%L, C, H°)
  - (H, S, L)
- Microorganismos
  - Coliformes
  - Mohos
  - Levaduras

**Tabla 12.** Tratamientos del almacenamiento del yogurt

TIEMPO	FACTORES COLORANTE	TRATAMIENTOS	REPETICIONES			
			R1	R2	...	R8
t <sub>1</sub> = 0 días	M1= Con colorante	T1=(0 días, Con colorante)				
	M2= Sin colorante	T2=(0 días, Sin colorante)				
t <sub>2</sub> = 8 días	M1= Con colorante	T3=(8 días, Con colorante)				
	M2= Sin colorante	T4=(8 días, Sin colorante)				
t <sub>3</sub> = 15 días	M1= Con colorante	T5=(15 días, Con colorante)				
	M2= Sin colorante	T6=(15 días, Sin colorante)				

### 3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para la evaluación de los resultados del experimento se utilizó dos modelos estadísticos:

Para el análisis del efecto de la cantidad y el tiempo de contacto de las semillas de ayraampo en leche fresca se empleó un diseño completamente al azar (DCA) con un arreglo factorial 3x3x8 obteniéndose 9 tratamientos con 72 observaciones, cuyo modelo aditivo lineal es el siguiente (Ibañez, 2009).

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk} \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde:

$Y_{ijk}$  : Es la respuesta de la k-esima observación bajo el j-esimo nivel del factor cantidad sujeta al i-esimo nivel del tiempo de contacto.

$\mu$  : Media general o poblacional a la cual pertenecen las observaciones.

$\alpha_i$  : Efecto del i-esimo nivel del factor cantidad

$\beta_j$  : Efecto del j-esimo nivel del factor tiempo

$(\alpha\beta)_{ij}$  : Efecto de la interacción del i-ésimo nivel del factor Q, en el j-ésimo nivel del factor t.

$\varepsilon_{ijk}$  : Efecto del error experimental.

Para análisis del efecto del proceso de pasteurización en la estabilidad de la leche coloreada, se utilizó el DCA (diseño completamente al azar) con 3 tratamientos y 8 repeticiones con un total de 24 observaciones, cuyo modelo aditivo lineal es el siguiente.

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij} \quad \text{Ecuación 2}$$

Dónde:

$Y_{ij}$  : Variable de respuesta de la J-ésimo observación, sujeto al i-ésimo proceso.

$\mu$  : Es el efecto de la media general o constante común.

$\alpha_i$  : Es el efecto del i-ésimo proceso

$\varepsilon_{ij}$  : Efecto del error experimental..

Para el análisis del efecto del tiempo de almacenamiento y el colorante del yogurt se empleó un diseño completamente al azar (DCA) con un arreglo factorial 3x2x8 obteniéndose 6 tratamientos con 48 observaciones.

Para los análisis estadísticos se utilizó el paquete estadístico OrigenPro8J con el que se realizó el análisis de varianza ANVA de los efectos Q (Cantidad de semilla), t (tiempo de contacto en la leche), y la interacción (Q x t). Para cada parámetro de color (%L, C, H°) en el sistema CIEL\*a\*b y parámetros de color (H, S, L) en el modelo de color HSL para cada tratamiento. A los factores e interacciones de los factores con significancia se aplicaron la prueba de Tukey al 95% de confianza a las medias o promedios.

Los análisis estadísticos se realizaron para las tres etapas (Coloración, Proceso de pasteurización y Almacenamiento).



## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. PRIMERA ETAPA: PROCESO DE COLORACIÓN

Los resultados de la primera etapa (coloración de la leche con semillas de ayrampo) se realizaron mediante dos métodos:

#### 4.1.1. Resultados con CIEL\*a\*b del proceso de coloración

En la Tabla 13 se presenta los resultados del proceso de coloración con el sistema CIEL\*a\*b, en donde se observa que a medida que se incrementa la cantidad de colorante y tiempo, disminuye el parámetro %L, sin embargo aumenta el parámetro C y aumenta ligeramente el parámetro H°. Estos resultados comparados con (Muñoz, 2012) tienen la misma tendencia en los parámetros de %L y C ver Anexo 65, esto es debido a que el colorante de las semillas de ayrampo se disuelve en la leche por contener un porcentaje alto de humedad 87.12% (Ticona, 2006) ya que este colorante es soluble en agua. De acuerdo al análisis de varianza (Anexo 1, 5 y 9) el efecto de la cantidad y tiempo son altamente significativos tanto en el parámetro %L, C y H°, así mismo en el (Anexo 4, 8 y 12) se presenta la prueba de Tukey de las interacciones de los factores cantidad - tiempo.

De acuerdo al análisis de varianza y condiciones técnicas se procedió a elegir al mejor tratamiento T3 (2 g/L, 9 min) para continuar las siguientes etapas del estudio.

**Tabla 13.** Resultados del proceso de coloración con el sistema CIEL\*a\*b

TRATAMIENTOS	FACTORES (Cantidad/L, Tiempo)	Parámetros de color		
		% L	C	H°
T1	(2 g/L, 3 min)	67.01±0.07 <sup>a</sup>	20.58±0.30 <sup>l</sup>	327.93±0.31 <sup>c</sup>
T2	(2 g/L, 6 min)	66.10±0.36 <sup>b</sup>	24.23±0.19 <sup>h</sup>	327.16±0.63 <sup>d</sup>
T3	(2 g/L, 9 min)	67.09±0.19 <sup>a</sup>	25.05±0.25 <sup>g</sup>	326.38±0.32 <sup>e</sup>
T4	(4 g/L, 3 min)	62.78±0.24 <sup>c</sup>	29.03±0.29 <sup>f</sup>	327.28±0.36 <sup>d</sup>
T5	(4 g/L, 6 min)	55.43±0.16 <sup>f</sup>	30.09±0.44 <sup>e</sup>	328.79±0.29 <sup>a</sup>
T6	(4 g/L, 9 min)	59.81±0.31 <sup>d</sup>	34.53±0.84 <sup>c</sup>	328.06±0.38 <sup>bc</sup>
T7	(6 g/L, 3 min)	60.08±0.16 <sup>d</sup>	33.70±0.24 <sup>d</sup>	327.71±0.35 <sup>cd</sup>
T8	(6 g/L, 6 min)	56.20±0.26 <sup>e</sup>	37.85±0.39 <sup>b</sup>	328.74±0.37 <sup>a</sup>
T9	(6 g/L, 9 min)	56.39±0.23 <sup>e</sup>	40.25±0.51 <sup>a</sup>	328.63±0.35 <sup>ab</sup>

Diferentes letras (<sup>a, b, c, ..., f</sup>), indica que son diferentes significativamente entre medias al nivel de 0.05.

En las Figuras 10, 11 y 12 se representan gráficamente los valores de la Tabla 13.

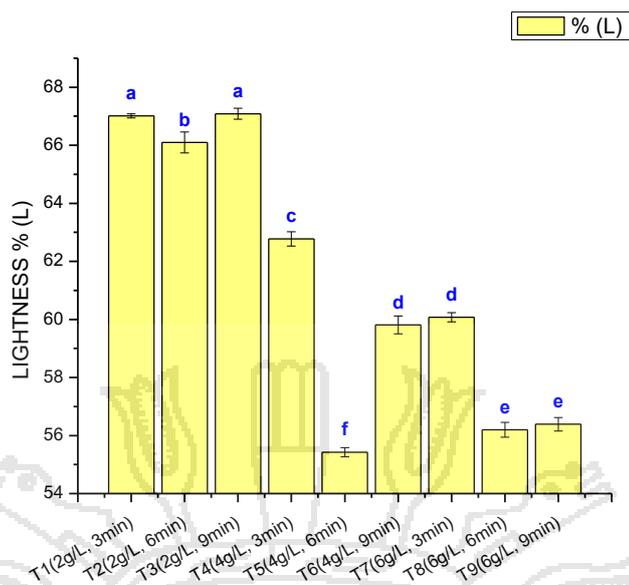


Figura 10. Parámetro %L para cada tratamiento en la coloración.

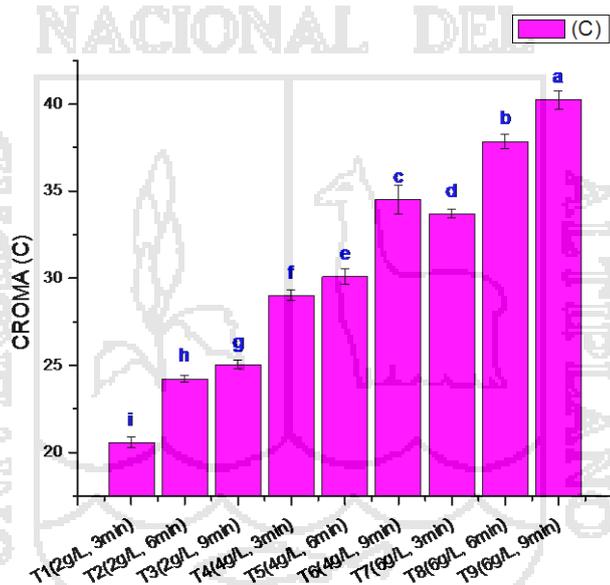


Figura 11. Parámetro C para cada tratamiento en la coloración.

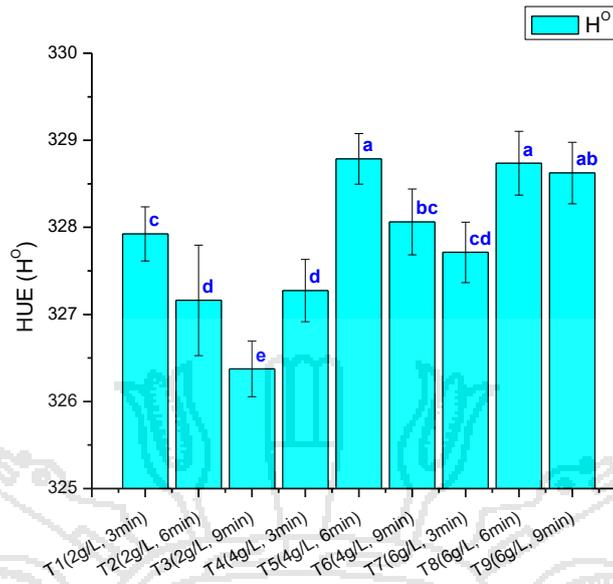


Figura 12. Parámetro H° para cada tratamiento en la coloración.

4.1.2. Resultados con modelo de color HSL del proceso de coloración

En la Tabla 14 se presenta los resultados del proceso de coloración con el modelo de color HSL, en donde se observa que a medida que se incrementa la cantidad de colorante, disminuye el parámetro H, sin embargo aumentan los parámetros S y L. Por otra parte cuando se incrementa el tiempo, disminuye el parámetro H, sin embargo aumenta el parámetro S y se mantiene el parámetro L. Estos resultados indican que la solución del colorante en leche proporciona como resultado un color fucsia en todos los tratamientos aumentando su intensidad y luminosidad según aumenta la cantidad de semillas de ayraampo por litro de leche y el tiempo de contacto.

Tabla 14. Resultados del proceso de coloración con el modelo de color HSL

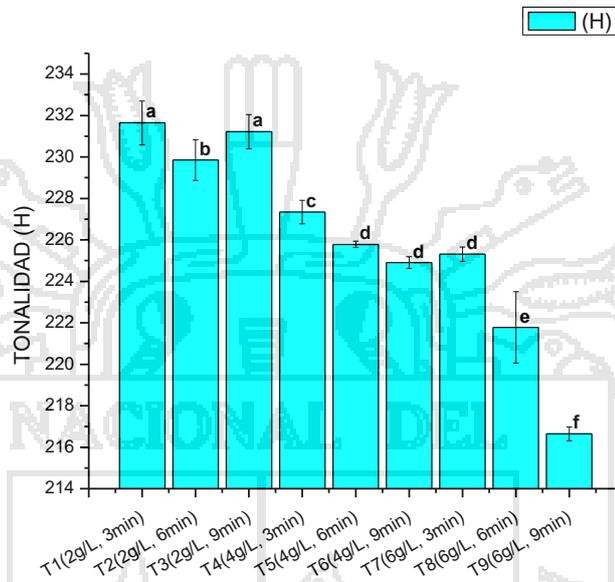
TRATAMIENTOS	FACTORES (Cantidad/L, Tiempo)	Parámetros de color		
		H	S	L
T1	(2 g/L, 3 min)	231.65±1.05 <sup>a</sup>	138.41±2.94 <sup>f</sup>	195.69±0.70 <sup>fg</sup>
T2	(2 g/L, 6 min)	229.85±0.98 <sup>b</sup>	160.80±10.64 <sup>d</sup>	197.50±3.75 <sup>ef</sup>
T3	(2 g/L, 9 min)	231.22±0.83 <sup>a</sup>	150.78±7.62 <sup>e</sup>	193.69±2.52 <sup>g</sup>
T4	(4 g/L, 3 min)	227.35±0.57 <sup>c</sup>	214.02±3.24 <sup>c</sup>	206.81±0.59 <sup>ab</sup>
T5	(4 g/L, 6 min)	225.78±0.16 <sup>d</sup>	221.51±3.76 <sup>bc</sup>	201.81±1.10 <sup>cd</sup>
T6	(4 g/L, 9 min)	224.90±0.28 <sup>d</sup>	228.57±2.56 <sup>b</sup>	198.38±0.74 <sup>def</sup>
T7	(6 g/L, 3 min)	225.31±0.34 <sup>d</sup>	229.34±2.25 <sup>b</sup>	200.38±0.58 <sup>de</sup>
T8	(6 g/L, 6 min)	221.78±1.73 <sup>e</sup>	251.62±6.08 <sup>a</sup>	203.88±4.43 <sup>bc</sup>
T9	(6 g/L, 9 min)	216.65±0.34 <sup>f</sup>	255.00±0.00 <sup>a</sup>	209.56±0.73 <sup>a</sup>

Diferentes letras (<sup>a, b, c, ..., f</sup>), indica que son diferentes significativamente entre medias al nivel de 0.05.

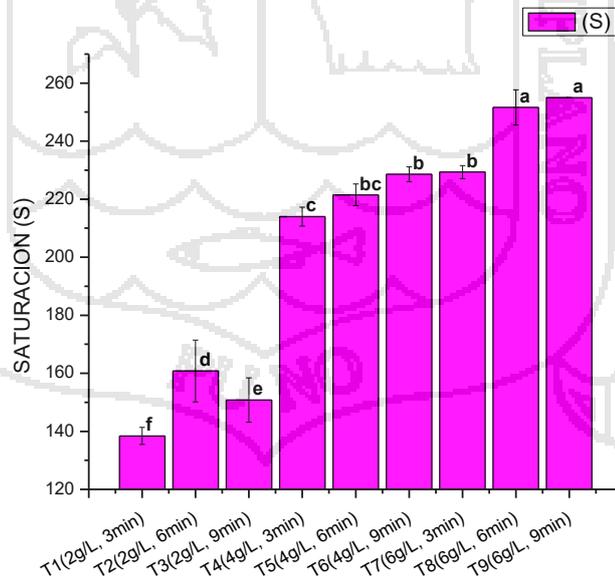
De acuerdo al análisis de varianza (Anexos 13, 17 y 21) el efecto de la cantidad es altamente significativo tanto en el parámetro H, S y L. Sin embargo el efecto del

tiempo es altamente significativo en el parámetro H y S, siendo no significativo para el parámetro L. Así mismo en la Tabla 14 se presenta datos del Anexo 16, 20 y 23 de la prueba de Tukey de los promedios en la interacción de los factores cantidad - tiempo.

En las Figuras 13, 14 y 15 se representan gráficamente los valores de la Tabla 14.



**Figura 13.** Parámetro H para cada tratamiento en la coloración.



**Figura 14.** Parámetro S para cada tratamiento en la coloración.

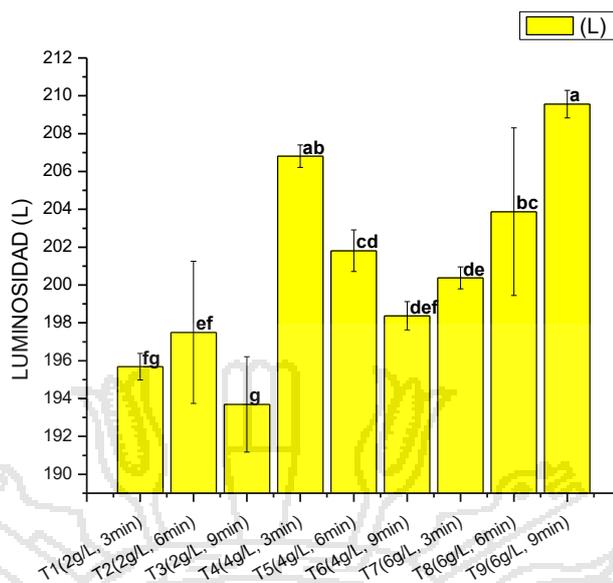


Figura 15. Parámetro L para cada tratamiento en la coloración.

#### 4.2. SEGUNDA ETAPA: ESTABILIDAD AL TRATAMIENTO TÉRMICO (PASTEURIZACIÓN)

Los resultados del proceso de pasteurización de la leche coloreada se realizaron por el sistema CIEL\*a\*b y modelo de color HSL.

##### 4.2.1. Resultados con CIEL\*a\*b del proceso de pasteurización

En la Tabla 15 se presenta los resultados del proceso de pasteurización con el sistema CIEL\*a\*b, en donde se observa que a medida que se incrementa la temperatura y disminuye el tiempo de pasteurización, disminuye el parámetro %L, sin embargo son más estables los parámetros C y H. Estos resultados indican una ligera pérdida de la intensidad del color durante el proceso de pasteurización. De acuerdo al análisis de varianza (Anexo 24, 26 y 28) el efecto de la pasteurización es altamente significativo tanto en el parámetro %L, C y H°. Así mismo en la Tabla 15 se presenta datos del Anexo 25, 27 y 29 de la prueba de Tukey de los promedios de cada parámetro de color.

De acuerdo al análisis de varianza y condiciones técnicas se procedió a elegir al mejor tratamiento P3 (89 °C/1s) por presentar mayor estabilidad en el parámetro C = 24.13±0.45, este tratamiento se eligió para continuar la siguiente etapa del estudio.

Tabla 15. Resultados del proceso de pasteurización con el sistema CIEL\*a\*b

Parámetros de color	PROCESOS		
	P1(63 °C/1800s)	P2(72 °C/15s)	P3(89 °C/1s)
%L	66.50±0.50 <sup>a</sup>	57.06±0.39 <sup>c</sup>	63.33±0.37 <sup>b</sup>
C	21.41±.47 <sup>b</sup>	23.70±0.40 <sup>a</sup>	24.13±0.45 <sup>a</sup>
H°	327.55±0.61 <sup>b</sup>	329.81±0.47 <sup>a</sup>	328.23±0.37 <sup>b</sup>

Diferentes letras (a, b, c), indica que son diferentes significativamente entre medias al nivel de 0.05.

En las Figuras 16, 17 y 18 se representan gráficamente los valores de la Tabla

15.

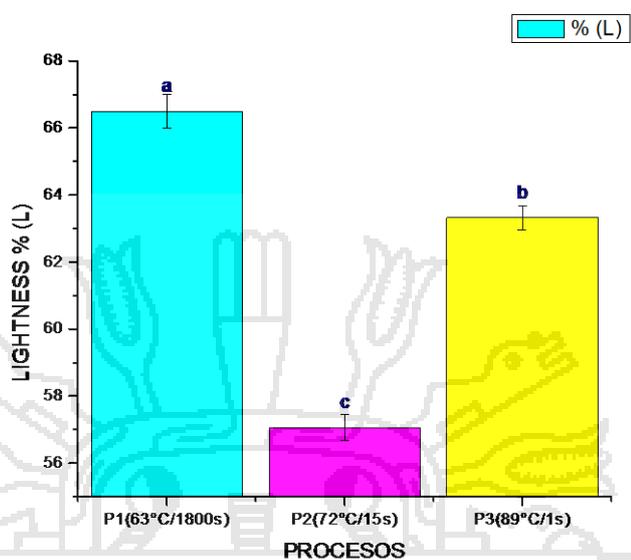


Figura 16. Parámetro %L para cada proceso de pasteurización.

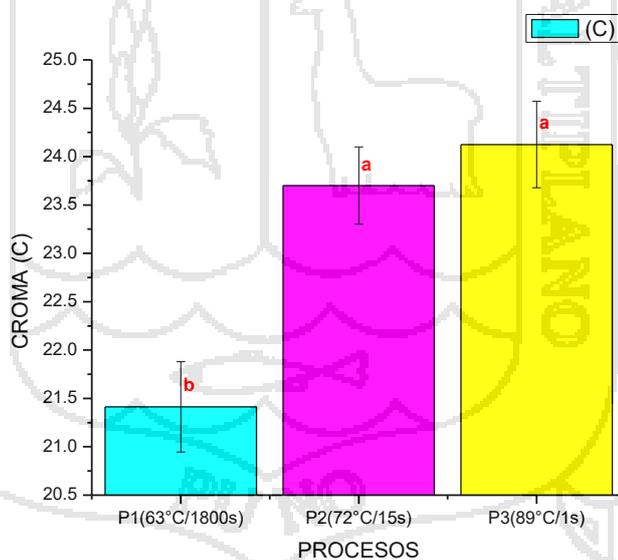
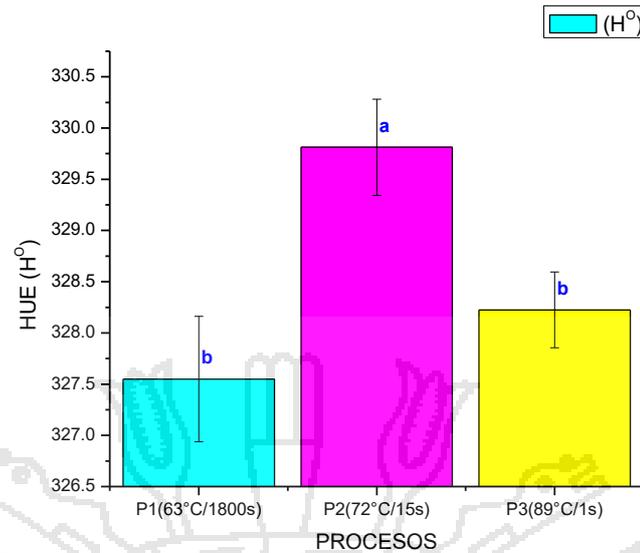


Figura 17. Parámetro C para cada proceso de pasteurización.



**Figura 18.** Parámetro H° para cada proceso de pasteurización.

#### 4.2.2. Resultados con modelo de color HSL del proceso de pasteurización

En la Tabla 16 se presenta los resultados del proceso de pasteurización con el modelo de color HSL, en donde se observa que a medida que se incrementa la temperatura y disminuye el tiempo de pasteurización, disminuye el parámetro H, sin embargo aumentan los parámetros S y L. Estos resultados indican que es poco estable a la temperatura (Lock, 1997). Sin embargo mantiene el color fucsia en este proceso (pasteurización). De acuerdo al análisis de varianza (Anexos 30, 32 y 34) el efecto de la pasteurización es altamente significativo tanto en el parámetro H, S y L. Así mismo en la Tabla 16 se presenta datos del Anexo 31, 33 y 35 de la prueba de Tukey de los promedios de cada parámetro de color.

**Tabla 16.** Resultados del proceso de pasteurización con el modelo de color HSL

Parámetros de color	PROCESOS		
	P1(63 °C/1800s)	P2(72 °C/15s)	P3(89 °C/1s)
H	230.78±0.31 <sup>a</sup>	226.96±0.22 <sup>c</sup>	227.93±0.43 <sup>b</sup>
S	181.04±1.90 <sup>b</sup>	223.88±8.99 <sup>a</sup>	223.46±9.07 <sup>a</sup>
L	214.06±0.18 <sup>b</sup>	217.69±2.30 <sup>a</sup>	218.19±2.30 <sup>a</sup>

Diferentes letras (<sup>a, b, c</sup>), indica que son diferentes significativamente entre medias al nivel de 0.05.

En las Figuras 19, 20 y 21 se representan gráficamente los valores de la Tabla 16.

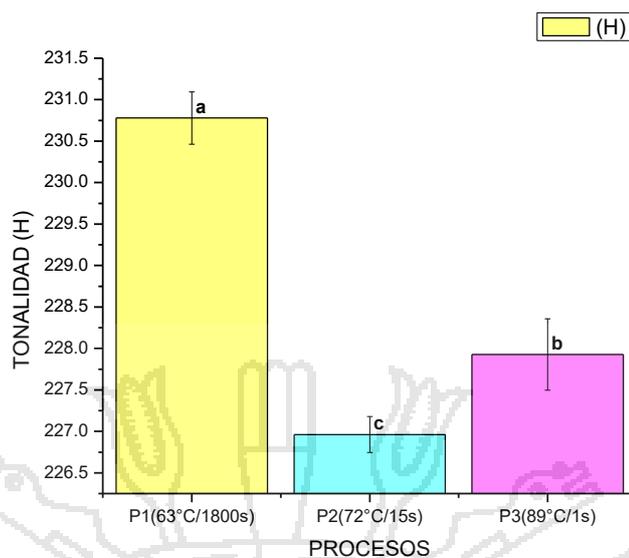


Figura 19. Parámetro H para cada proceso de pasteurización.

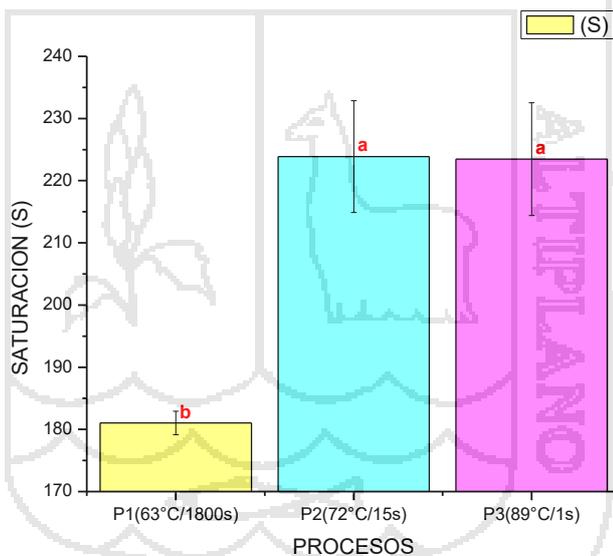


Figura 20. Parámetro S para cada proceso de pasteurización.

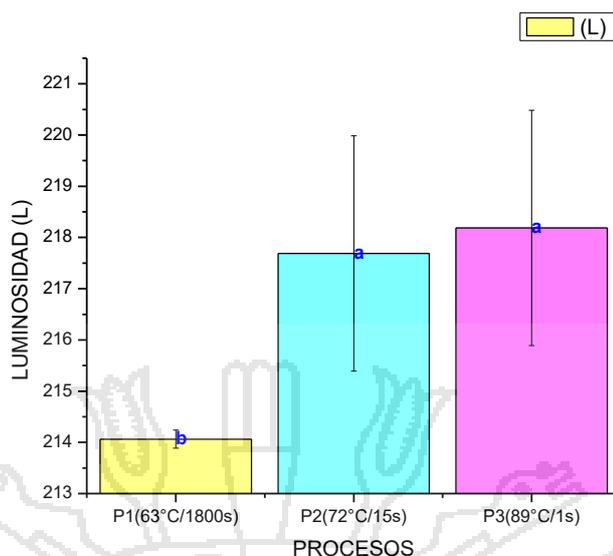


Figura 21. Parámetro L para cada proceso de pasteurización.

### 4.3. TERCERA ETAPA: ESTABILIDAD EN ALMACENAMIENTO

Los resultados del almacenamiento del yogurt a 5 °C de temperatura fueron:

#### 4.3.1. Resultados con CIEL\*a\*b del almacenamiento

En la Tabla 17 se presenta los resultados del almacenamiento con el sistema CIEL\*a\*b, en donde se observa que a medida que se incrementa el tiempo de almacenamiento, aumentan los parámetros %L y H°, sin embargo se mantiene relativamente estable el parámetros C. Por otra parte cuando se incrementa el colorante, disminuye el parámetro %L, sin embargo aumentan los parámetros C y H°. Estos resultados comparados con la cromía de yogurt con colorante de Berberis bolivian (C = 14.00) obtenido por (Wallace & Giusti, 2015) de la Tabla 6 son muy cercanos. Sin embargo entre la segunda etapa (proceso de pasteurización) y el primer dato de esta etapa se perdió la una considerable intensidad de color con un cambio de color hacia el rojo, esto podría ser debido a que se produjo una hidrólisis y oxidación del colorante.

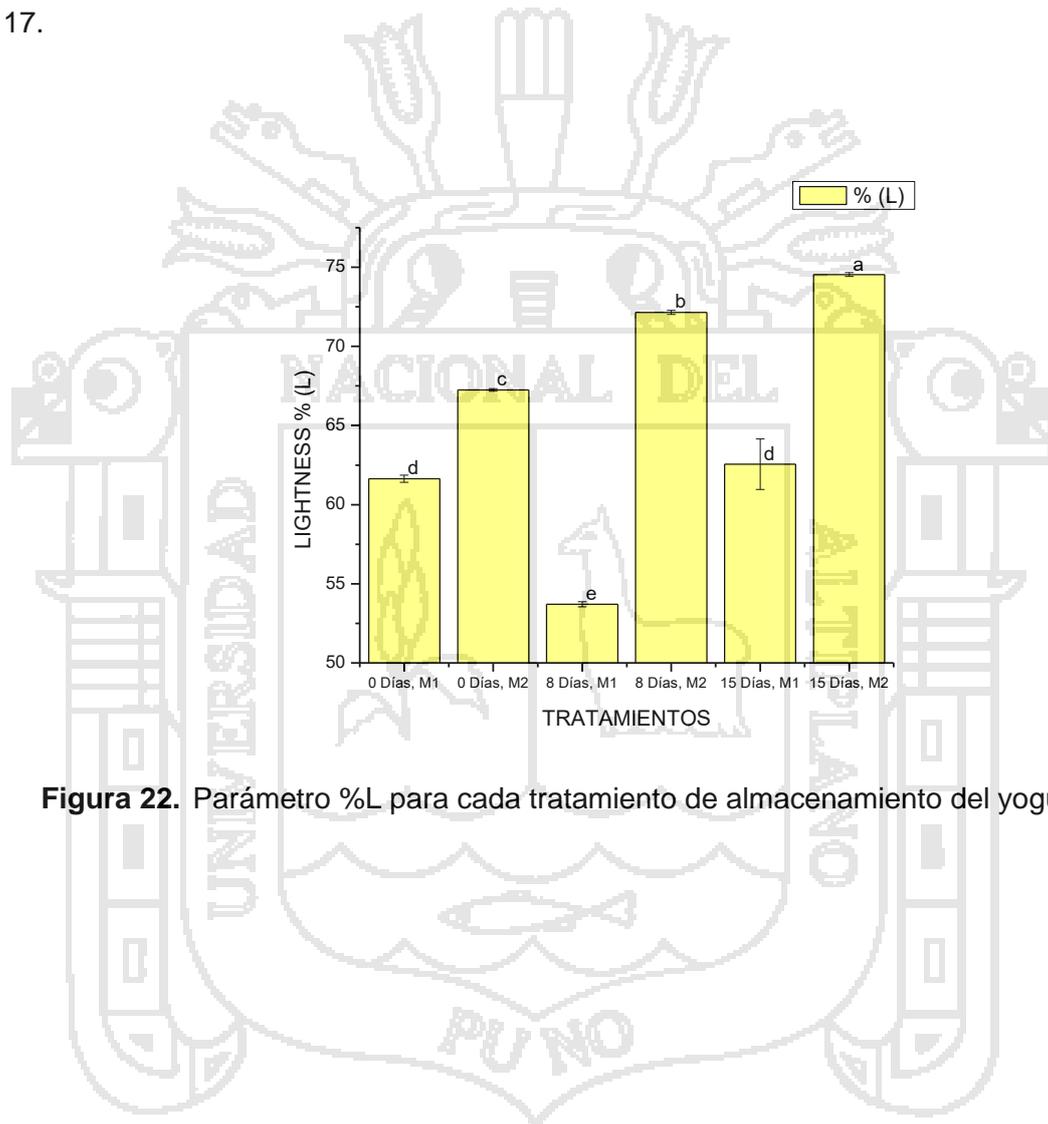
Tabla 17. Resultados del almacenamiento con el sistema CIEL\*a\*b

Parámetros de color	Yogurt	Tiempo (días)		
		0	8	15
%L	M1(Con colorante)	61.64±0.23 <sup>d</sup>	53.71±0.16 <sup>e</sup>	62.56±1.59 <sup>d</sup>
	M2(Sin colorante)	67.25±0.08 <sup>c</sup>	72.15±0.13 <sup>b</sup>	74.54±0.12 <sup>a</sup>
C	M1(Con colorante)	15.00±0.24 <sup>a</sup>	14.90±0.48 <sup>ab</sup>	14.55±0.33 <sup>b</sup>
	M2(Sin colorante)	5.43±0.18 <sup>d</sup>	5.80±0.14 <sup>cd</sup>	6.03±0.12 <sup>c</sup>
H°	M1(Con colorante)	351.64±0.60 <sup>b</sup>	352.73±0.92 <sup>b</sup>	355.60±0.54 <sup>a</sup>
	M2(Sin colorante)	77.59±2.12 <sup>d</sup>	79.11±2.58 <sup>d</sup>	85.64±1.74 <sup>c</sup>

Diferentes letras (a, b, ..., e), indica que son diferentes significativamente entre medias al nivel de 0.05.

De acuerdo al análisis de varianza (Anexo 36, 40 y 43) el efecto del tiempo es altamente significativo tanto en el parámetro %L, H° y siendo no significativo para el parámetro C. En cuanto al efecto del colorante es altamente significativo tanto en el parámetro %L, C y H°. Así mismo en la Tabla 17 se presenta datos del Anexos 39, 42 y 46 de la prueba de Tukey de los promedios de la interacción de los factores Tiempo – Colorante en los parámetros de color.

En las Figuras 22, 23 y 24 se representan gráficamente los valores de la Tabla 17.



**Figura 22.** Parámetro %L para cada tratamiento de almacenamiento del yogurt.

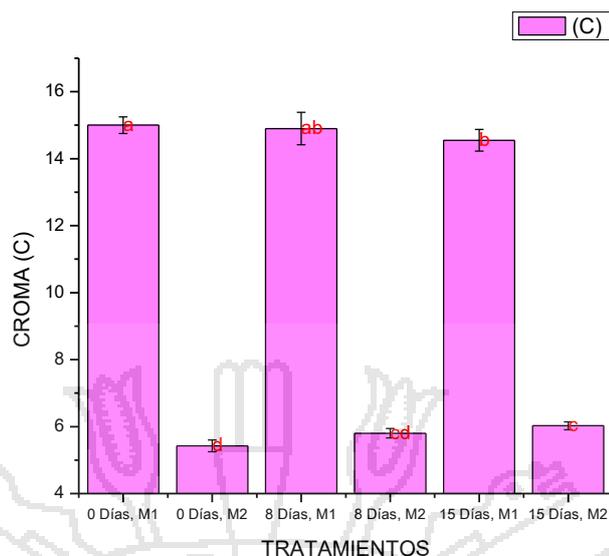


Figura 23. Parámetro C para cada tratamiento de almacenamiento del yogurt.

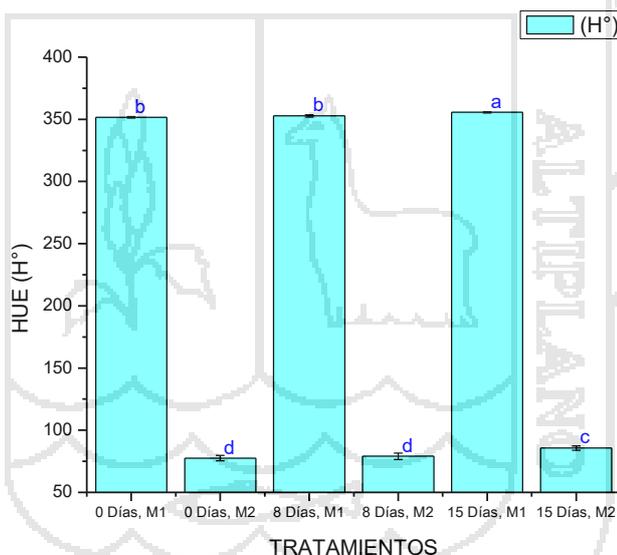


Figura 24. Parámetro H° para cada tratamiento de almacenamiento del yogurt.

4.3.2. Resultados con modelo de color HSL del almacenamiento

En la Tabla 18 se presenta los resultados del almacenamiento con el modelo de color HSL, en donde se observa que a medida que se incrementa el tiempo de almacenamiento, aumenta el parámetro H, sin embargo disminuyen los parámetros S y L. Por otra parte cuando se incrementa el colorante, aumentan los parámetros H, S y L. Estos resultados comparados con el yogurt comercial (S = 111.76) según Anexo 60, son próximos en este parámetro de color. Sin embargo el color del yogurt en esta etapa es Rosa claro esto podría ser el efecto de la incubación por estar expuesto a temperatura

de (45 °C) y tiempo transcurrido de (6 horas) en este proceso y/o a la proliferación de los microorganismos del cultivo para la obtención del yogurt.

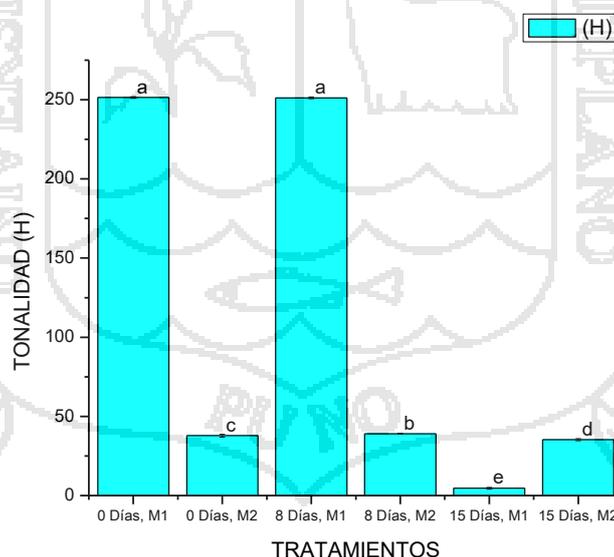
**Tabla 18.** Resultados del almacenamiento con el modelo de color HSL

Parámetros de color	Yogurt	Tiempo (días)		
		0	8	15
<b>H</b>	M1(Con colorante)	251.50±0.45 <sup>a</sup>	251.18±0.54 <sup>a</sup>	4.62±0.54 <sup>e</sup>
	M2(Sin colorante)	37.85±0.88 <sup>c</sup>	39.05±0.07 <sup>b</sup>	35.31±0.65 <sup>d</sup>
<b>S</b>	M1(Con colorante)	129.76±7.19 <sup>a</sup>	120.25±2.27 <sup>b</sup>	87.53±0.89 <sup>c</sup>
	M2(Sin colorante)	71.01±2.11 <sup>e</sup>	59.31±1.39 <sup>f</sup>	80.77±1.54 <sup>d</sup>
<b>L</b>	M1(Con colorante)	214.69±3.10 <sup>a</sup>	212.19±0.26 <sup>b</sup>	204.75±0.27 <sup>d</sup>
	M2(Sin colorante)	208.06±2.06 <sup>c</sup>	202.06±0.42 <sup>e</sup>	204.88±0.23 <sup>d</sup>

Diferentes letras (a, b, ..., e), indica que son diferentes significativamente entre medias al nivel de 0.05.

De acuerdo al análisis de varianza (Anexo 47, 51 y 55) el efecto del tiempo y colorante son altamente significativo tanto en el parámetro H, S y L. Así mismo en la Tabla 18 se presenta datos del Anexos 50, 54 y 58 de la prueba de Tukey de los promedios de la interacción de los factores Tiempo – Colorante en los parámetros de color.

En las Figuras 25, 26 y 27 se representan gráficamente los valores de la Tabla 18.



**Figura 25.** Parámetro H para cada tratamiento de almacenamiento del yogurt.

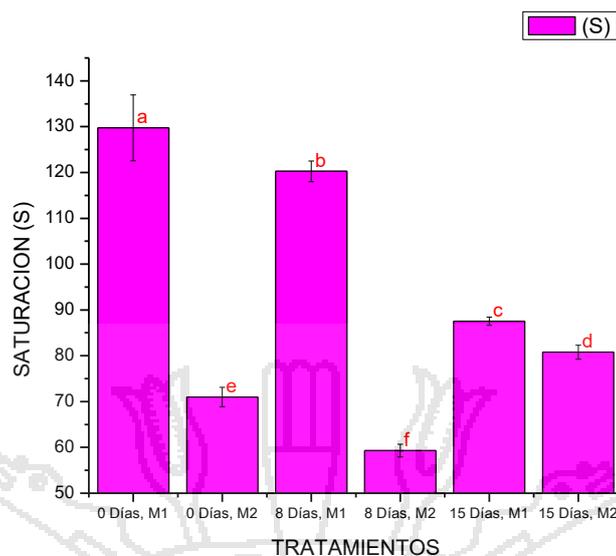


Figura 26. Parámetro S para cada tratamiento de almacenamiento del yogurt.

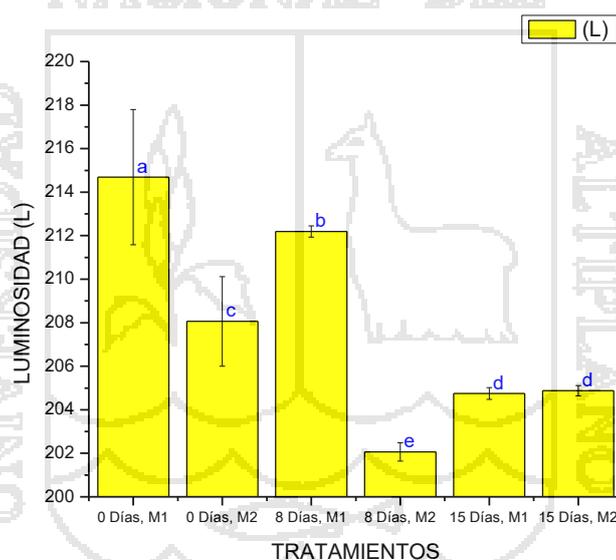


Figura 27. Parámetro L para cada tratamiento de almacenamiento del yogurt.

#### 4.3.3. Resultado del análisis microbiológico de yogurt

En la Tabla 19 se presentan los resultados del análisis microbiológico del yogurt con colorante y yogurt sin colorante del Anexo 66, en donde las muestras M1 (yogurt con colorante) y M2 (yogurt sin colorante) no presentaron coliformes y Mohos, en ambas muestras se encontraron levaduras  $7 \times 10^4$  ufc/ml en M1 (yogurt con colorante) y  $5.1 \times 10^4$  ufc/ml en M2 (yogurt sin colorante) a los seis días de almacenado. Estos resultados comparados con los requisitos microbiológicos son mayores al límite máximo ( $1.0 \times 10^2$  ufc/ml) de levaduras para leches fermentadas y acidificadas de la Tabla 7, esto podría

ser debido a que durante los procesos de incubación y batido no estuvieron herméticamente cerrados.

**Tabla 19.** Resultados del análisis microbiológico del yogurt con y sin colorante

Agente microbiano	VALOR OBTENIDO	
	Yogurt con colorante	Yogurt sin colorante
Coliformes (ufc/ml)	Negativo	Negativo
Levaduras (ufc/ml)	$7 \times 10^4$	$5.1 \times 10^4$
Mohos (ufc/ml)	Negativo	Negativo

Sin embargo se realizó una repetición del análisis microbiológico (levaduras) en donde no se utilizó edulcorante para las dos muestras el cual se muestra en la Tabla 20 del Anexo 71, en donde el yogurt con colorante presenta ( $7.9 \times 10^3$  ufc/ml) y el yogurt sin colorante presenta ( $1.0 \times 10^4$  ufc/ml) a los 6 días de almacenado.

**Tabla 20.** Resultado de la repetición del análisis microbiológico del yogurt con y sin colorante a los cero y seis días

Agente microbiano	Días	VALOR OBTENIDO	
		Yogurt con colorante	Yogurt sin colorante
Levaduras (ufc/ml)	0	$1.0 \times 10^4$	$9.6 \times 10^3$
	6	$7.9 \times 10^3$	$1.0 \times 10^4$

## CONCLUSIONES

En el presente trabajo de investigación se llegó a las siguientes conclusiones:

La cantidad y tiempo de contacto de las semillas de ayrampo afectaron significativamente en los parámetros de color tanto mediante el sistema CIEL\*a\*b y modelo de color HSL, manteniendo una coloración fucsia, obteniendo mejores parámetros de color con 2 g/L y 9 min (%L = 67.09, C = 25.05, H° = 326.38) y (H = 231.22, S = 150.78, L = 193.69).

El proceso de pasteurización afectó significativamente en los parámetros de color tanto mediante el sistema CIEL\*a\*b y modelo de color HSL, manteniendo una coloración fucsia, obteniendo mayor estabilidad de los parámetros de color a 89 °C/1s (%L = 63.33, C = 24.13, H° = 328.23) y (H = 227.93, S = 223.46, L = 218.9).

El tiempo y colorante afectaron significativamente en los parámetros de color tanto mediante el sistema CIEL\*a\*b y modelo de color HSL, manteniendo una coloración rosa claro, obteniendo variaciones a los 15 días de (%L = 61.64 - 62.56, C = 15.00 - 14.55, H° = 351.64 - 335.60) y (H = 251.5 - 4.62, S = 129.76 - 87.53, L = 214.69 - 204.75). Por otra parte la proliferación de microorganismos patógenos en el yogurt con colorante a los 6 días de almacenado se encontró levaduras  $7,9 \times 10^3$  ufc/ml, sin embargo negativo para coliformes y mohos.

## RECOMENDACIONES

Realizar investigaciones relacionados con la propagación del ayrampo, con las semillas agotadas en colorante y/o artejos (cladodios) para que sea un cultivo sostenible y posterior aplicación en la industria láctea.

Realizar un estudio de coloración de la leche a diferentes temperaturas hasta agotar el colorante del ayrampo y medir la máxima croma que se puede alcanzar.

Se recomienda determinar el grado de aceptabilidad del yogurt con colorante de ayrampo utilizando diferentes esencias de plantas aromáticas producido en la región de Puno.

Se recomienda determinar el efecto del consumo de yogurt con colorante de ayrampo sobre el nivel de hemoglobina y la capacidad reductora de fiebre en personas ya que el ayrampo es utilizado como antipirético.



## BIBLIOGRAFÍA

- Abramoff, M. D., Magelhaes, P. J., & Ran, S. J. (2004). *Image processing with ImageJ. Biophotonics International* (Vol. 11).
- Alcazar del Castillo, J. (2002). *"Diccionario Técnico de Industrias Alimentárias"*. Cusco, Perú.
- Ancco, T., & Zamata, N. (2004). *"Separatas del curso de Tecnología Agroindustrial"*. Puno: Universidad Nacional del Altiplano.
- Brack, A. (1999). *"Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles del Perú"*. Cusco - Perú: Programa de las Naciones Unidas para el desarrollo (PNUD), Centro de Estudios Regionales Andinos Bartolomé de las Casas (CBC).
- Brennan, J. G. (2008). *Manual del procesamiento de los alimentos*. Zaragoza, España: Editorial Acribia S.A.
- Calsin, A., & Yanqui, P. (1999). *"Efectividad del Ayrampo y Limón en el Tratamiento de la Hipertensión Arterial en el Personal Administrativo de la UNA - Puno"*. Tesis para optar el Título de Licenciado en Enfermería de la Universidad Nacional del Altiplano - Puno.
- Casilla, P. (2006). *"Extracción de Colorante a partir de las Semillas de Ayrampo (Opuntia soeherensii Britt & Rose)"*. Universidad Nacional del Altiplano.
- Castleman, K. R. (1996). *Digital Imaging Processing*. New Jersey: Prentice-Hall: Englewood Cliffs.
- Chan, K. L. (1995). *Quantitative caracterización of electron micrograph image fractal*. IEEE Transactions on Biomedical Engineering.
- Charley, H. (1995). *"Tecnología de Alimentos, procesos Químicos y Físicos en la Preparación de los Alimentos"*. Editorial Limusa, S.A. de C.V. Grupo Noriega.
- Cheftel, S., & Cheftel, P. (1999). *"Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los Alimentos"* (Vol. Volumen II). Zaragoza, España: Editorial Acribia S.A.
- Choqueza, A. (2001). *"Investigación Experimental de la Obención del Pigmento Clorofila a partir de la Ortiga (Urtica urens)"*. Puno: Tesis para optar el Título de Ingeniero Químico UNA.
- CIE 15. (2004). *Technical report, colorimetry. Commission Internationale de L'Eclairage*.
- Cocquerez, J., & Philipp, S. (1997). *Analyse D'Images Filtrage et Segmentation*. Masson.
- Codex Alimentarius. (2003). *Codex Stan 243-2003 1, Norma del Codex para leches fermentadas*.
- Collazos, C. (1996). *"Tablas Peruanas de composición de los Alimentos"* (Sétima Edición ed.). Lima - Perú: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de la Salud/Centro Nacional de Alimentación y Nutrición.
- Coultate, T. (1998). *"Manual de Química y Bioquímica de los Alimentos"* (Segunda Edición ed.). Zaragoza, España: Editorial Acribia S.A.

- Cubero, N., & Monferrer, A. (2002). *"Aditivos Alimentarios Tecnología de los Alimentos"*. España: Ediciones Mundi-Prensa.
- Cuevas, E., Zalvivar, D., & Pérez, M. (2010). *Procesamiento digital de imágenes usando MATLAB y Simulink* (Primera Edición ed.). México: Alfaomega Grupo Editor S.A.
- Doweld, A. (2002). *Airampo. Turczaninowia*.
- Du, C., & Sun, D. (2004). *Recent developments in the applications of image processing techniques for food quality evaluation*. Food Science and Technology.
- Fennema, O. (1982). *"Introducción a la Ciencia de los alimentos"*. Barcelona - Bogotá: Editorial Reverté S.A.
- Fennema, O. (1993). *"Química de los Alimentos"*. Zaragoza - España: Editorial Acribia.
- Gadkari, D. (2004). *Image Quality Analysis Using GLCM. Thesis of Master of Science in Modeling and Simulation in the College of Arts and Sciences at the University of Central Florida Orlando*. Florida.
- Gallart, F., & Pardini, G. (1996). *Perfilru: Un programa para el análisis de la rugosidad de perfiles microtopográficos mediante el estudio de la geometría fractal*. Coruña: IV Reunión de Geomorfología. Sociedad Española de Geomorfología.
- Gamarra, S. (2003). *"Extracción de Betaninas de las Semillas de Ayrampo, Evaluación de la Capacidad Antioxidante y Compuestos Fenólicos de los Extractos"*. Lima: Tesis para Optar el Título de Ingeniero en Industrias Alimentarias UNALM.
- Gamarra, S., Chirinos, R., & Campos, D. (2004). *Evaluación de la capacidad antioxidante, compuestos fenólicos y betaninas en extractos acuosos de Ayrampo (Opuntia soehrensii Britton & Rose) y evaluación de su estabilidad*. Anales Científicos de la UNALM.
- García, M. J. (1994). *Efecto de estabilizantes sobre el desuerado de yogurt batido*. Chapingo, México: Tesis UACH.
- Gibaja, S. (1998). *"Pigmentos Naturales Quinónicos"*. Lima, Perú: Centro de Producción Editorial UNMSM.
- Gómez, J. C. (1999). *Tesis "Método de control de acidez de yogurt"*. Chapingo, México: Universidad Autónoma.
- Gonzales, R., & Woods, R. (2002). *Tratamiento digital de imágenes* (Segunda edición ed.). New Jersey: Prentice Hall.
- Gonzalez, R., & Woods, R. (1996). *Tratamiento digital de imágenes*. Reading, Washington: Addison-Wesley Publishing Co.
- Haralick, R., Shanmugam, K., & Dinstein, I. (1973). *Textural features for image classification. IEEE Transactions on System. Man and Cybernetics*.

- Hatta, B., & Ramos, C. (2000). *"Guía de Prácticas de Tecnología de Alimentos"*. Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Ibañez, V. (2009). *Análisis y Diseño de Experimentos*. Puno, Perú: Editorial Universitaria.
- IDFA. (11 de Enero de 2015). Obtenido de <http://www.idfa.org/milk/pasteur.cfm>.
- Jiménez, G. N. (2005). *"Extracción del Colorante del Pimiento Páprika y su Aplicación en Chorizos Crudos Curados"*. Tesis para Optar el Título Profesional de Ingeniero Agroindustrial UNA - Puno.
- Kiesling, R., Saravia, M., Oakley, L., Muruaga, N., Metzger, D., & Novara, L. (2011). *Aportes botánicos de Salta, Flora del Valle de Lerma* (Vol. Volumen 10). (F. d. Naturales, Ed.) Buenos Aires, Argentina.
- Lock, O. (1997). *"Colorantes Naturales"*. Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú.
- Madrid, A., & Madrid, J. (2000). *"Los Aditivos en los alimentos según la Unión Europea y la Legislación Española"*. Ediciones Mundi Prensa Libros S.A.
- Madrid, A., & Madrid, J. (2000). *"Los Aditivos en los Alimentos según la Unión Europea y la Legislación Española"*. Ediciones Mundi Prensa Libros S.A.
- Marfart, P., & Béliard, E. (1994). *"Ingeniería Industrial Alimentaria. Técnicas de Separación"* (Vol. Volumen II). Zaragoza - España: Editorial Acibria S. A.
- Medina, L. (1997). *"Contenido Bacteriológico de la leche fresca de consumo humano expandida en la ciudad de Puno"* Tesis UNA-Puno.
- Medina, W. T., Skurtys, O., & Aguilera, J. M. (2010). *Study on image analysis application for identification Quinoa seeds (Chenopodium quinoa Willd) geographical provenance*. Journal Food Science and Technology.
- Ministerio de Agricultura. (2009). *Calidad de la Leche, Cambios organolépticos y nutricionales producidos por los tratamientos térmicos durante el procesamiento de la leche*.
- Miranda, G. (30 de Mayo de 2011). *Portal Lechero*. Recuperado el 4 de Enero de 2015, de <http://www.portalechero.com/innovaportal/v/667/1/innova.front/defectos-del-yogur.html>
- Morales, C. A. (2008). *Clasificación de calidad sensorial de papas fritas tipo chips mediante visión computacional*. Santiago, Chile: Universidad de Chile, Departamento de Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química. Memoria para optar al título de Ingeniero en Alimentos.
- Multon, L. (2000). *"Aditivos y Auxiliares de Fabricación en las Industrias Agroalimentarias"*. Zaragoza - España: Editorial Acibria S.A.
- Muñoz, M. (2012). *Aplicación de Colorantes Naturales en Alimentos*.

- Pearson, D. (1993). *"Técnicas de Laboratorio para Análisis de Alimentos"*. Zaragoza, España: Editorial Acribia S.A.
- Pedreschi, F., León, J., Mery, D., & Moyano, P. (2006). *Development of a computer vision system to measure the 3 color or potato chips*. Food Research International.
- Pentland, A. (1984). *Fractal based description of natural scenes*. IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence.
- Pérez, C. (2010). *Computo evolutivo como enfoque en la descripción del contenido de la imagen aplicado a la segmentación y el reconocimiento de objetos*. México: Tesis Doctoral. Ciencia de la computación, CICESE.
- Quevedo, R., Carlos, L. G., & Aguilera, J. M. (2002). *Description of food surfaces and microestructura changes using fractal image texture analysis*. Journal of Food Engineering.
- Reyes, C. I. (2008). *Tesis "Propuesta para tecnificar la producción artesanal de yogurt probiótico"*. Guatemala: USC.
- Robinson, D. (1991). *"Bioquímica y Valor Nutritivo de los Alimentos"*. Azaragoza - España: Editorial Acribia S.A.
- Sanchez, M. A. (1992). *Tesis "Evaluación de diferentes lactovacillus en la elaboración de un producto tipo yogurt"*. México: UNAM.
- Solano, M. (1998). *"Botánica Sistemática"*. Universidad Nacional del Altiplano - Puno.
- Soriano, R. I. (2001). *"Obtención de Colorante Natural a partir del Ayrampo"*. Universidad Técnica de Oruro.
- Spreer, E. (1991). *Lactología industrial*. Zaragoza, España: Editorial Acribia.
- Tamine, A. Y., & Robinson, R. K. (1991). *Yogurt, ciencia y tecnología*. Zaragoza, España: Editorial Acribia.
- Tephrocactus Study Group (the 'TSG Journal'). (2012). *Opuntioideae of Peru - an overview (part 2)* (Vol. Volumen 18). © TSG and Oaul Hoxey.
- Ticona, E. (2006). *"Evaluación de los Parámetros de Pasteurización de leche en el Distrito de Taraco - Huancané"*. Puno, Perú.
- Tipe, O. (1989). *"Estudio Técnico para la Optención de los Colorantes a Partir de los Frutos del Opuntia Soehrensii (Ayrampo)"*. Ayacucho: Tesis UNSCH.
- Tracnova. (2005). *Análisis y procesamiento de imágenes*. National Instruments. Argentina.
- Vargas, W. L., Pineda, L. M., & Santaella, L. E. (2006). *Rugosidad y textura de superficies: Experimentos y simulaciones*. Ciencia y Tecnología neogranadina.

Wallace, T., & Giusti, M. (2015). Determination of Color, Pigment, and Phenolic Stability of Non-Acylated Anthocyanins from *Berberis boliviana* L. in Yogurt Systms.

Zenteno, A. (2004). "*Farmacopea Andina e Identificación de Plantas Instituto de Medicina Natural*". Editorial Sagitario Impresores.



## ANEXOS

**Anexo 1.** Análisis de Varianza (ANVA) para la Lightness %(L) de la coloración de leche.

F de V	GL	SC	CM	FC	Significancia
Cantidad (A)	2	1137.08583	568.542917	9526.11802	**
Tiempo (B)	2	196.880833	98.4404167	1649.4006	**
Interacción (AxB)	4	103.148333	25.7870833	432.070811	**
Error Experimental	63	3.76	0.05968254		
<b>Total</b>	<b>71</b>	<b>1440.875</b>			

\*\* Altamente significativo

Coefficiente de variación = 0.40%. Con datos de (Anexo 67 - Observaciones 1)

**Anexo 2.** Prueba de Tukey para determinar el efecto de la cantidad de colorante, sobre la Lightness %(L) en la coloración de leche.

Factor A	Media	Rangos ordenados
1 2g/L	66.73	a
2 4g/L	59.34	b
3 6g/L	57.55	c

**Anexo 3.** Prueba de Tukey para determinar el efecto del tiempo de contacto, sobre la Lightness %(L) en la coloración de leche.

Factor B	Media	Rangos ordenados
1 3 min	63.29	a
3 9 min	61.10	b
2 6 min	59.24	c

**Anexo 4.** Prueba de Tukey para determinar el efecto de la interacción cantidad – tiempo de contacto, sobre la Lightness %(L) en la coloración de leche.

Interacción (AxB)	Media	Rangos ordenados
3 (2g/L, 9 min)	67.09	a
1 (2g/L, 3 min)	67.01	a
2 (2g/L, 6 min)	66.10	b
4 (4g/L, 3 min)	62.78	c
7 (6g/L, 3 min)	60.08	d
6 (4g/L, 9 min)	59.81	d
9 (6g/L, 9 min)	56.39	e
8 (6g/L, 3 min)	56.20	e
5 (4g/L, 6 min)	55.43	f

**Anexo 5.** Análisis de Varianza (ANVA) para la cromas (C) de la coloración de leche.

F de V	GL	SC	CM	FC	Significancia
Cantidad (A)	2	2360.46583	1180.23292	5841.47491	**
Tiempo (B)	2	364.740833	182.370417	902.628793	**
Interacción (AxB)	4	37.8833333	9.47083333	46.8751841	**
Error Experimental	63	12.72875	0.20204365		
<b>Total</b>	<b>71</b>	<b>2775.81875</b>			

\*\* Altamente significativo

Coeficiente de variación = 1.47% Con datos de (Anexo 67 - Observaciones 2)

**Anexo 6.** Prueba de Tukey para determinar el efecto de la cantidad de semilla de ayrampo, sobre la cromas (C) en la coloración de leche.

Factor A	Media	Rangos ordenados
<b>3</b> 6g/L	37.27	a
<b>2</b> 4g/L	31.21	b
<b>1</b> 2g/L	23.28	c

**Anexo 7.** Prueba de Tukey para determinar el efecto del tiempo de contacto, sobre la cromas (C) en la coloración de leche.

Factor B	Media	Rangos ordenados
<b>3</b> 9 min	33.28	a
<b>2</b> 6 min	30.72	b
<b>1</b> 3 min	27.77	c

**Anexo 8.** Prueba de Tukey para determinar el efecto de la interacción cantidad – tiempo de contacto, sobre la cromas (C) en la coloración de leche.

Interacción (AxB)	Media	Rangos ordenados
<b>9</b> (6g/L, 9 min)	40.25	a
<b>8</b> (6g/L, 3 min)	37.85	b
<b>6</b> (4g/L, 9 min)	34.53	c
<b>7</b> (6g/L, 3 min)	33.70	d
<b>5</b> (4g/L, 6 min)	30.09	e
<b>4</b> (4g/L, 3 min)	29.03	f
<b>3</b> (2g/L, 9 min)	25.05	g
<b>2</b> (2g/L, 6 min)	24.23	h
<b>1</b> (2g/L, 3 min)	20.58	i

**Anexo 9.** Análisis de Varianza (ANVA) para la Hue (H°) de la coloración de leche.

F de V	GL	SC	CM	FC	Significancia
Cantidad (A)	2	18.7036111	9.35180556	62.9869037	**
Tiempo (B)	2	5.16777778	2.58388889	17.4031805	**
Interacción (AxB)	4	18.6547222	4.66368056	31.4111319	**
Error Experimental	63	9.35375	0.14847222		
<b>Total</b>	<b>71</b>	<b>51.8798611</b>			

\*\* Altamente significativo

Coeficiente de variación = 0.12% Con datos de (Anexo 67 - Observaciones 3)

**Anexo 10.** Prueba de Tukey para determinar el efecto de la cantidad de semilla de ayrampo, sobre la Hue (H°) en la coloración de leche.

Factor A	Media	Rangos ordenados
<b>3</b> 6g/L	328.36	a
<b>2</b> 4g/L	328.04	a
<b>1</b> 2g/L	327.15	b

**Anexo 11.** Prueba de Tukey para determinar el efecto del tiempo de contacto, sobre la Hue (H°) en la coloración de leche.

Factor B	Media	Rangos ordenados
<b>2</b> 6 min	328.23	a
<b>3</b> 9 min	327.69	a
<b>1</b> 3 min	327.64	a

**Anexo 12.** Prueba de Tukey para determinar el efecto de la interacción cantidad – tiempo de contacto, sobre la Hue (H°) en la coloración de leche.

Interacción (AxB)	Media	Rangos ordenados
<b>5</b> (4g/L, 6 min)	328.79	a
<b>8</b> (6g/L, 3 min)	328.74	a
<b>9</b> (6g/L, 9 min)	328.63	ab
<b>6</b> (4g/L, 9 min)	328.06	bc
<b>1</b> (2g/L, 3 min)	327.93	c
<b>7</b> (6g/L, 3 min)	327.71	cd
<b>4</b> (4g/L, 3 min)	327.28	d
<b>2</b> (2g/L, 6 min)	327.16	d
<b>3</b> (2g/L, 9 min)	326.38	e

**Anexo 13.** Análisis de Varianza (ANVA) para Tonalidad (H) en la coloración de leche.

F de V	GL	SC	CM	Fc	Significancia
Cantidad (A)	2	1119.854556	559.9272778	790.0936329	**
Tiempo (B)	2	179.6640271	89.83201355	126.7587859	**
Interacción (AxB)	4	162.769737	40.69243425	57.41965872	**
Error Experimental	63	44.64713679	0.708684711		
<b>Total</b>	<b>71</b>	<b>1506.935457</b>			

\*\* Altamente significativo

Coeficiente de variación = 0.37% Con datos de (Anexo 68 - Observaciones 10)

**Anexo 14.** Prueba de Tukey para determinar el efecto de la cantidad de semilla de ayrampo, sobre Tonalidad (H) en la coloración de leche.

	Factor A	Media	Rangos ordenados
1	2g/L	230.91	a
2	4g/L	226.01	b
3	6g/L	221.25	c

**Anexo 15.** Prueba de Tukey para determinar el efecto del tiempo de contacto, sobre Tonalidad (H) en la coloración de leche.

	Factor B	Media	Rangos ordenados
1	3 min	228.10	a
2	6 min	225.81	b
3	9 min	224.26	c

**Anexo 16.** Prueba de Tukey para determinar el efecto de la interacción cantidad – tiempo de contacto, sobre Tonalidad (H) en la coloración de leche.

	Interacción (AxB)	Media	Rangos ordenados
1	(2g/L, 3 min)	231.65	a
3	(2g/L, 9 min)	231.22	a
2	(2g/L, 6 min)	229.85	b
4	(4g/L, 3 min)	227.35	c
5	(4g/L, 6 min)	225.78	d
7	(6g/L, 3 min)	225.31	d
6	(4g/L, 9 min)	224.90	d
8	(6g/L, 3 min)	221.78	e
9	(6g/L, 9 min)	216.65	f

**Anexo 17.** Análisis de Varianza (ANVA) para Saturación (S) en la coloración de leche.

F de V	GL	SC	CM	Fc	Significancia
Cantidad (A)	2	118025.1745	59012.58724	2097.364375	**
Tiempo (B)	2	4874.873225	2437.436613	86.62885255	**
Interacción (AxB)	4	1095.243157	273.8107893	9.731500038	**
Error Experimental	63	1772.602338	28.13654505		
<b>Total</b>	<b>71</b>	<b>125767.8932</b>			

\*\* Altamente significativo

Coefficiente de variación = 2.58% Con datos de (Anexo 68 - Observaciones 11)

**Anexo 18.** Prueba de Tukey para determinar el efecto de la cantidad de semilla de ayrampo, sobre Saturación (S) en la coloración de leche.

	Factor A	Media	Rangos ordenados
3	6g/L	245.32	a
2	4g/L	221.37	b
1	2g/L	150.00	c

**Anexo 19.** Prueba de Tukey para determinar el efecto del tiempo de contacto, sobre Saturación (S) en la coloración de leche.

	Factor B	Media	Rangos ordenados
3	9 min	211.45	a
2	6 min	211.31	a
1	3 min	193.93	b

**Anexo 20.** Prueba de Tukey para determinar el efecto de la interacción cantidad – tiempo de contacto, sobre Saturación (S) en la coloración de leche.

	Interacción (AxB)	Media	Rangos ordenados
9	(6g/L, 9 min)	255.00	a
8	(6g/L, 3 min)	251.62	a
7	(6g/L, 3 min)	229.34	b
6	(4g/L, 9 min)	228.57	b
5	(4g/L, 6 min)	221.51	bc
4	(4g/L, 3 min)	214.02	c
2	(2g/L, 6 min)	160.81	d
3	(2g/L, 9 min)	150.78	e
1	(2g/L, 3 min)	138.41	f

**Anexo 21.** Análisis de Varianza (ANVA) para Luminosidad (L) en la coloración de leche.

F de V	GL	SC	CM	Fc	Significancia
Cantidad (A)	2	1046.271515	523.1357577	108.1573193	**
Tiempo (B)	2	3.64586773	1.822933865	0.376888097	ns
Interacción (AxB)	4	686.5833135	171.6458284	35.48744736	**
Error Experimental	63	304.7186538	4.836804029		
<b>Total</b>	71	2041.219351			

\*\* Altamente significativo

ns No significativo

Coefficiente de variación = 1.09% Con datos de (Anexo 68 - Observaciones 12)

**Anexo 22.** Prueba de Tukey para determinar el efecto de la cantidad de semilla de ayraimo, sobre Luminosidad (L) en la coloración de leche.

	Factor A	Media	Rangos ordenados
3	6g/L	204.60	a
2	4g/L	202.33	a
1	2g/L	195.63	b

**Anexo 23.** Prueba de Tukey para determinar el efecto de la interacción cantidad – tiempo de contacto, sobre Luminosidad (L) en la coloración de leche.

Interacción (AxB)	Media	Rangos ordenados
9 (6g/L, 9 min)	209.56	a
4 (4g/L, 3 min)	206.81	ab
8 (6g/L, 3 min)	203.88	bc
5 (4g/L, 6 min)	201.81	cd
7 (6g/L, 3 min)	200.38	de
6 (4g/L, 9 min)	198.38	def
1 (2g/L, 3 min)	197.50	ef
2 (2g/L, 6 min)	195.69	fg
3 (2g/L, 9 min)	193.69	g

**Anexo 24.** Análisis de Varianza (ANVA) para Lightness %(L) en la estabilidad al tratamiento térmico de leche coloreada.

F de V	GL	SC	CM	Fc	Significancia
Tratamientos	2	368.9758333	184.487917	1032.10023	**
Error Experimental	21	3.75375	0.17875		
<b>Total</b>	<b>23</b>	<b>372.7295833</b>			

\*\* Altamente significativo

Coefficiente de variación = 0.68% Con datos de (Anexo 67 - Observaciones 4)

**Anexo 25.** Prueba de Tukey para determinar el efecto del tratamiento térmico, sobre Lightness %(L) de leche coloreada.

Tratamientos	Media	Rangos ordenados
1 63°C/1800 s.	66.50	a
3 89°C/1 s.	63.33	b
2 72°C/15 s.	57.06	c

**Anexo 26.** Análisis de Varianza (ANVA) para Cromo (C) en la estabilidad al tratamiento térmico de leche coloreada.

F de V	GL	SC	CM	Fc	Significancia
Tratamientos	2	34.05583333	17.0279167	88.4293663	**
Error Experimental	21	4.04375	0.19255952		
<b>Total</b>	<b>23</b>	<b>38.09958333</b>			

\*\* Altamente significativo

Coefficiente de variación = 1.90% Con datos de (Anexo 67 - Observaciones 5)

**Anexo 27.** Prueba de Tukey para determinar el efecto del tratamiento térmico, sobre Cromo (C) de leche coloreada.

Tratamientos	Media	Rangos ordenados
3 89°C/1 s.	24.13	a
2 72°C/15 s.	23.70	a
1 63°C/1800 s.	21.41	b

**Anexo 28.** Análisis de Varianza (ANVA) para Hue (H°) en la estabilidad al tratamiento térmico de leche coloreada.

F de V	GL	SC	CM	Fc	Significancia
Tratamientos	2	21.58583333	10.7929167	44.2354233	**
Error Experimental	21	5.12375	0.2439881		
<b>Total</b>	<b>23</b>	<b>26.70958333</b>			

\*\* Altamente significativo

Coefficiente de variación = 0.15% Con datos de (Anexo 67 - Observaciones 6)

**Anexo 29.** Prueba de Tukey para determinar el efecto del tratamiento térmico, sobre Hue (H°) de leche coloreada.

Tratamientos	Media	Rangos ordenados
<b>2</b> 72°C/15 s.	329.81	a
<b>3</b> 89°C/1 s.	328.23	b
<b>1</b> 63°C/1800 s.	327.55	b

**Anexo 30.** Análisis de Varianza (ANVA) para Tonalidad (H) en la estabilidad al tratamiento térmico de leche coloreada.

F de V	GL	SC	CM	Fc	Significancia
Tratamientos	2	63.0347272	31.5173636	284.837545	**
Error Experimental	21	2.323656576	0.11065031		
<b>Total</b>	<b>23</b>	<b>65.35838377</b>			

\*\* Altamente significativo

Coefficiente de variación = 0.15% Con datos de (Anexo 68 - Observaciones 13)

**Anexo 31.** Prueba de Tukey para determinar el efecto del tratamiento térmico, sobre Tonalidad (H) de leche coloreada.

Tratamientos	Media	Rangos ordenados
<b>1</b> 63°C/1800 s.	230.78	a
<b>3</b> 89°C/1 s.	227.93	b
<b>2</b> 72°C/15 s.	226.96	c

**Anexo 32.** Análisis de Varianza (ANVA) para Saturación (S) en la estabilidad al tratamiento térmico de leche coloreada.

F de V	GL	SC	CM	Fc	Significancia
Tratamientos	2	9692.915712	4846.45786	87.1799188	**
Error Experimental	21	1167.420392	55.5914472		
<b>Total</b>	<b>23</b>	<b>10860.3361</b>			

\*\* Altamente significativo

Coefficiente de variación = 3.56% Con datos de (Anexo 68 - Observaciones 14)

**Anexo 33.** Prueba de Tukey para determinar el efecto del tratamiento térmico, sobre Saturación (S) de leche coloreada.

	Tratamientos	Media	Rangos ordenados
2	72°C/15 s.	223.88	a
3	89°C/1 s.	223.46	a
1	63°C/1800 s.	181.04	b

**Anexo 34.** Análisis de Varianza (ANVA) para Luminosidad (L) en la estabilidad al tratamiento térmico de leche coloreada.

F de V	GL	SC	CM	Fc	Significancia
Tratamientos	2	81.08341866	40.5417093	11.4808384	**
Error Experimental	21	74.15624781	3.5312499		
<b>Total</b>	<b>23</b>	<b>155.2396665</b>			

\*\* Altamente significativo

Coefficiente de variación = 0.87% Con datos de (Anexo 68 - Observaciones 15)

**Anexo 35.** Prueba de Tukey para determinar el efecto del tratamiento térmico, sobre Luminosidad (L) de leche coloreada.

	Tratamientos	Media	Rangos ordenados
3	89°C/1 s.	218.19	a
2	72°C/15 s.	217.69	a
1	63°C/1800 s.	214.06	b

**Anexo 36.** Análisis de Varianza (ANVA) para Lightness %(L) en la estabilidad al almacenamiento del yogurt.

F de V	GL	SC	CM	Fc	Significancia
Tiempo (A)	2	270.502917	135.251458	304.996577	**
Colorante (B)	1	1730.40083	1730.40083	3902.11195	**
Interacción (AxB)	2	328.967917	164.483958	370.916846	**
Error Experimental	42	18.625	0.44345238		
<b>Total</b>	<b>47</b>	<b>2348.49667</b>			

\*\* Altamente significativo

Coefficiente de variación = 1.02% Con datos de (Anexo 67 - Observaciones 7)

**Anexo 37.** Prueba de Tukey para determinar el efecto del tiempo de almacenamiento, sobre Lightness %(L) del yogurt.

	Factor A	Media	Rangos ordenados
3	15 días	68.55	a
1	0 días	64.44	b
2	8 días	62.93	c

**Anexo 38.** Prueba de Tukey para determinar el efecto del colorante en almacenamiento, sobre Lightness %(L) del yogurt.

	Factor B	Media	Rangos ordenados
2	Sin colorante	71.31	a
1	Con colorante	59.30	b

**Anexo 39.** Prueba de Tukey para determinar el efecto de la interacción tiempo de almacenamiento – colorante, sobre Lightness %(L) del yogurt.

	<b>Interacción (AxB)</b>	<b>Media</b>	<b>Rangos ordenados</b>
<b>6</b>	(15 días, Sin colorante)	74.54	a
<b>4</b>	(7 días, Sin colorante)	72.15	b
<b>2</b>	(0 días, Sin colorante)	67.25	c
<b>5</b>	(15 días, Con colorante)	62.56	d
<b>1</b>	(0 días, Con colorante)	61.64	d
<b>3</b>	(7 días, Con colorante)	53.71	e

**Anexo 40.** Análisis de Varianza (ANVA) para Cromo (C) en la estabilidad al almacenamiento del yogurt.

<b>F de V</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>Fc</b>	<b>Significancia</b>
Tiempo (A)	2	0.15166667	0.07583333	0.98	ns
Colorante (B)	1	986.453333	986.453333	12748.0123	**
Interacción (AxB)	2	2.21166667	1.10583333	14.2907692	**
Error Experimental	42	3.25	0.07738095		
<b>Total</b>	<b>47</b>	<b>992.066667</b>			

\*\* Altamente significativo

ns No significativo

Coefficiente de variación = 2.71% Con datos de (Anexo 67 - Observaciones 8)

**Anexo 41.** Prueba de Tukey para determinar el efecto del colorante en almacenamiento, sobre Cromo (C) del yogurt.

	<b>Factor B</b>	<b>Media</b>	<b>Rangos ordenados</b>
<b>1</b>	Con colorante	14.82	a
<b>2</b>	Sin colorante	5.75	b

**Anexo 42.** Prueba de Tukey para determinar el efecto de la interacción tiempo de almacenamiento – colorante, sobre Cromo (C) del yogurt.

	<b>Interacción (AxB)</b>	<b>Media</b>	<b>Rangos ordenados</b>
<b>1</b>	(0 días, Con colorante)	15.00	a
<b>3</b>	(8 días, Con colorante)	14.90	ab
<b>5</b>	(15 días, Con colorante)	14.55	b
<b>6</b>	(15 días, Sin colorante)	6.03	c
<b>4</b>	(8 días, Sin colorante)	5.80	cd
<b>2</b>	(0 días, Sin colorante)	5.43	d

**Anexo 43.** Análisis de Varianza (ANVA) para Hue (H°) en la estabilidad al almacenamiento del yogurt.

F de V	GL	SC	CM	Fc	Significancia
Tiempo (A)	2	319.31375	159.656875	61.1656367	**
Colorante (B)	1	891347.521	891347.521	341481.309	**
Interacción (AxB)	2	40.2954167	20.1477083	7.71872435	**
Error Experimental	42	109.63	2.6102381		
<b>Total</b>	<b>47</b>	<b>891816.76</b>			

\*\* Altamente significativo

Coefficiente de variación = 0.74% Con datos de (Anexo 67 - Observaciones 9)

**Anexo 44.** Prueba de Tukey para determinar el efecto del tiempo de almacenamiento, sobre Hue (H°) del yogurt.

Factor A	Media	Rangos ordenados
<b>3</b> 15 días	220.62	a
<b>2</b> 8 días	215.92	b
<b>1</b> 0 días	214.61	b

**Anexo 45.** Prueba de Tukey para determinar el efecto del colorante en almacenamiento, sobre Hue (H°) del yogurt.

Factor B	Media	Rangos ordenados
<b>1</b> Con colorante	353.32	a
<b>2</b> Sin colorante	80.78	b

**Anexo 46.** Prueba de Tukey para determinar el efecto de la interacción tiempo de almacenamiento – colorante, sobre Hue (H°) del yogurt.

Interacción AxB	Media	Rangos ordenados
<b>5</b> (15 días, Con colorante)	355.60	a
<b>3</b> (8 días, Con colorante)	352.73	b
<b>1</b> (0 días, Con colorante)	351.64	b
<b>6</b> (15 días, Sin colorante)	85.64	c
<b>4</b> (8 días, Sin colorante)	79.11	d
<b>2</b> (0 días, Sin colorante)	77.59	d

**Anexo 47.** Análisis de Varianza (ANVA) para Tonalidad (H) en la estabilidad al almacenamiento del yogurt.

F de V	GL	SC	CM	Fc	Significancia
Tiempo (A)	2	166489.466	83244.7332	250852.419	**
Colorante (B)	1	208134.768	208134.768	627200.16	**
Interacción (AxB)	2	158228.562	79114.2808	238405.578	**
Error Experimental	42	13.9375925	0.33184744		
<b>Total</b>	<b>47</b>	<b>532866.733</b>			

\*\* Altamente significativo

Coefficiente de variación = 0.56% Con datos de (Anexo 68 - Observaciones 16)

**Anexo 48.** Prueba de Tukey para determinar el efecto del tiempo de almacenamiento, sobre Tonalidad (H) del yogurt.

Factor A	Media	Rangos ordenados
2 8 días	145.12	a
1 0 días	144.67	a
3 15 días	19.96	b

**Anexo 49.** Prueba de Tukey para determinar el efecto del colorante en almacenamiento, sobre Tonalidad (H) del yogurt.

Factor B	Media	Rangos ordenados
1 Con colorante	169.10	a
2 Sin colorante	37.40	b

**Anexo 50.** Prueba de Tukey para determinar el efecto de la interacción tiempo de almacenamiento – colorante, sobre Tonalidad (H) del yogurt.

Interacción (AxB)	Media	Rangos ordenados
1 (0 días, Con colorante)	251.50	a
3 (8 días, Con colorante)	251.18	a
4 (8 días, Sin colorante)	39.05	b
2 (0 días, Sin colorante)	37.85	c
6 (15 días, Sin colorante)	35.31	d
5 (15 días, Con colorante)	4.62	e

**Anexo 51.** Análisis de Varianza (ANVA) para Saturación (S) en la estabilidad al almacenamiento del yogurt.

F de V	GL	SC	CM	Fc	Significancia
Tiempo (A)	2	2173.36975	1086.68488	98.1196326	**
Colorante (B)	1	21321.9173	21321.9173	1925.21194	**
Interacción (AxB)	2	7522.61849	3761.30924	339.618494	**
Error Experimental	42	465.154257	11.0751014		
<b>Total</b>	<b>47</b>	<b>31483.0598</b>			

\*\* Altamente significativo

Coefficiente de variación = 3.64% Con datos de (Anexo 68 - Observaciones 17)

**Anexo 52.** Prueba de Tukey para determinar el efecto del tiempo de almacenamiento, sobre Saturación (S) del yogurt.

Factor A	Media	Rangos ordenados
1 0 días	100.38	a
2 8 días	89.78	b
3 15 días	84.15	c

**Anexo 53.** Prueba de Tukey para determinar el efecto del colorante en almacenamiento, sobre Saturación (S) del yogurt.

Factor B	Media	Rangos ordenados
1 Con colorante	112.51	a
2 Sin colorante	70.36	b

**Anexo 54.** Prueba de Tukey para determinar el efecto de la interacción tiempo de almacenamiento – colorante, sobre Saturación (S) del yogurt.

	<b>Interacción (AxB)</b>	<b>Media</b>	<b>Rangos ordenados</b>
1	(0 días, Con colorante)	129.76	a
3	(8 días, Con colorante)	120.25	b
5	(15 días, Con colorante)	87.53	c
6	(15 días, Sin colorante)	80.77	d
2	(0 días, Sin colorante)	71.01	e
4	(8 días, Sin colorante)	59.31	f

**Anexo 55.** Análisis de Varianza (ANVA) para Luminosidad (L) en la estabilidad al almacenamiento del yogurt.

<b>F de V</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>Fc</b>	<b>Significancia</b>
Tiempo (A)	2	354.541534	177.270767	74.6403234	**
Colorante (B)	1	368.520874	368.520874	155.166684	**
Interacción (AxB)	2	217.166608	108.583304	45.7192861	**
Error Experimental	42	99.7499995	2.37499999		
<b>Total</b>	<b>47</b>	<b>1039.97902</b>			

\*\* Altamente significativo

Coeficiente de variación = 0.74% Con datos de (Anexo 67 - Observaciones 18)

**Anexo 56.** Prueba de Tukey para determinar el efecto del tiempo de almacenamiento, sobre Luminosidad (L) del yogurt.

	<b>Factor A</b>	<b>Media</b>	<b>Rangos ordenados</b>
1	0 días	211.38	a
2	8 días	207.13	b
3	15 días	204.81	b

**Anexo 57.** Prueba de Tukey para determinar el efecto del colorante en almacenamiento, sobre Luminosidad (L) en almacenamiento del yogurt.

	<b>Factor B</b>	<b>Media</b>	<b>Rangos ordenados</b>
1	Con colorante	210.54	a
2	Sin colorante	205.00	b

**Anexo 58.** Prueba de Tukey para determinar el efecto de la interacción tiempo de almacenamiento – colorante, sobre Luminosidad (L) en almacenamiento del yogurt.

	<b>Interacción (AxB)</b>	<b>Media</b>	<b>Rangos ordenados</b>
1	(0 días, Con colorante)	214.69	a
3	(8 días, Con colorante)	212.19	b
2	(0 días, Sin colorante)	208.06	c
6	(15 días, Sin colorante)	204.88	d
5	(15 días, Con colorante)	204.75	d
4	(8 días, Sin colorante)	202.06	e

**Anexo 59.** Color del yogurt comercial y leche fresca en el sistema CIEL\*a\*b.

Parámetros de Color	Yogurt Comercial	Leche Fresca
%L	57.11	75.65
C	19.76	2.47
H°	352.41	89.98

**Anexo 60.** Color del yogurt comercial y leche fresca en el sistema HSL.

Parámetros de Color	Yogurt Comercial	Leche Fresca
H	4.26	36.54
S	111.76	46.75
L	200.20	202.50

**Anexo 61.** Conversión del modelo RGB al HSL, del tratamiento tres (T3), de las ocho repeticiones.

N	Color	Rojo (R)	Verde (G)	Azul (B)	° Matiz (H)	% Saturación (S)	% Luminosidad (L)	Matiz (H)	Saturación (S)	Luminosidad (L)
R1		228.016	156.433	194.849	327.500	57.143%	75.294%	231.979	145.714	192.000
R2		229.936	157.521	197.415	327.500	59.016%	76.078%	231.979	150.492	194.000
R3		235.571	163.497	203.340	327.123	65.766%	78.235%	231.712	167.703	199.500
R4		229.691	156.936	198.049	326.301	59.350%	75.882%	231.130	151.341	193.500
R5		227.605	156.211	195.954	326.667	57.143%	75.294%	231.389	145.714	192.000
R6		227.245	155.901	195.311	327.042	55.906%	75.098%	231.655	142.559	191.500
R7		229.518	157.193	200.446	324.658	59.350%	75.882%	229.966	151.341	193.500
R8		229.544	156.974	200.435	324.658	59.350%	75.882%	229.966	151.341	193.500

**Anexo 62.** Portable Color Difference Meter SC 20.

*Portable Color Difference Meter*

# PORTABLE COLOR DIFFERENCE METER SC 20

**Standard package**

SC20 main unit	1
USB cable	1
Software CD	1
Power adapter	1
Operation manual	1
Leather pouch	1

**S**C20 portable color difference meter is widely applied to quality control of plastic and printing industries. It makes you capture color efficiently and accurately. ●



**KEY FEATURES**

- + Easy operation makes you use it easily.
- + Widely applied to quality control of plastic and printing industries.
- + Display directly color difference by E\*ab, L\*a\*b, CIE\_L\*a\*b, CIE\_L\*c\*h.
- + Standard deviation within E\*ab0.2 (test condition: choose average values by 12 pcs white tabula).
- + It can be connected with computer to do the inspection by software with USB expansion interface.



**Specifications**

Model	SC 20
Accuracy	<0.2 ΔE*ab
Display	Δ E*ab, CIE_Lab, ΔLab, CIE_Lch
Test range	L: 0~100, a: -128~127, b: -128~127
Test time	About 3 seconds
Test interval	2 seconds
Aperture (mm)	∅8
Power off	Automatically in 5 min
Light source	C light source
Sensor	Silicon photodiode array
Power Supply	DC/5V (1.5A)/2 x 1.5V (AAA) battery
Working environment	0~40°C, < 85%RH
Weight (g)	204
Dimension (mm)	171x50x49
Application	Measure any color of smooth surfaces

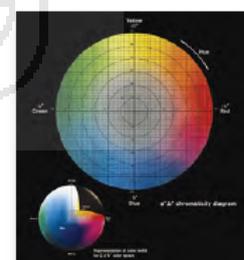
**COLOR ANALYSIS**  
- connecting with computer



**CIE COLOR SPACE CHART**

**Color Difference Analysis**

0~0.25 ΔE	Perfect
0.25~0.5 ΔE	Acceptable
0.5~1.0 ΔE	Acceptable in some areas
1.0~2.0 ΔE	Acceptable in some areas
2.0~4.0 ΔE	Acceptable in specific applications
4.0 ΔE	Not acceptable in most applications



### Anexo 63. Pasteurización de Lácteos a Diferentes Combinaciones de Tiempo y Temperatura

Temperatura	Tiempo	Tipo de Pasteurización
63°C (145°F)	30 minutos	Pasteurización VAT
72°C (161°F)	15 segundos	Pasteurización "High temperature short time" (HTST)
89°C (191°F)	1.0 segundos	Ultra Pasteurización (UP)
90°C (194°F)	0.5 segundos	Ultra Pasteurización (UP)
94°C (201°F)	0.1 segundos	Ultra Pasteurización (UP)
96°C (204°F)	0.05 segundos	Ultra Pasteurización (UP)
100°C (212°F)	0.01 segundos	Ultra Pasteurización (UP)
138°C (280°F)	2.0 segundos	Esterilización Ultra high temperature (UHT)

Fuente: website de IDFA: Pasteurización, Definición y Métodos (IDFA, 2015).

### Anexo 64. Imágenes

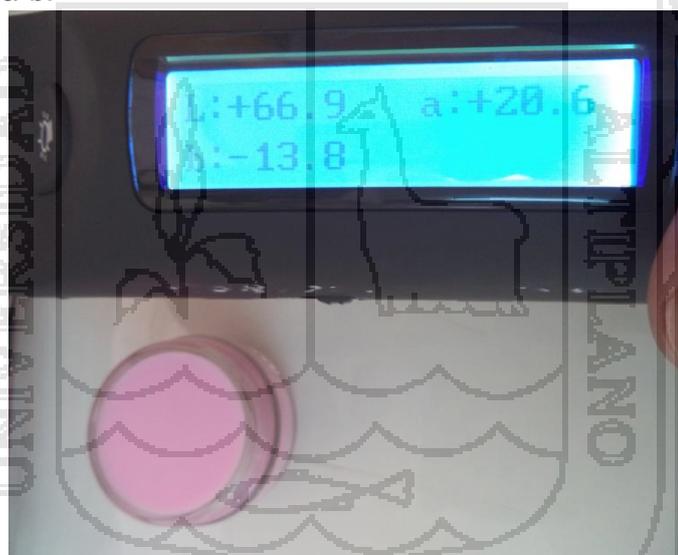
Imagen 1. Semillas secas de ayrampo (*Tunilla Soehrensii* Britt & Rose).



**Imagen 2.** Coloración de la leche con semillas de ayrampo (*Tunilla Soehrensii* Britt & Rose).



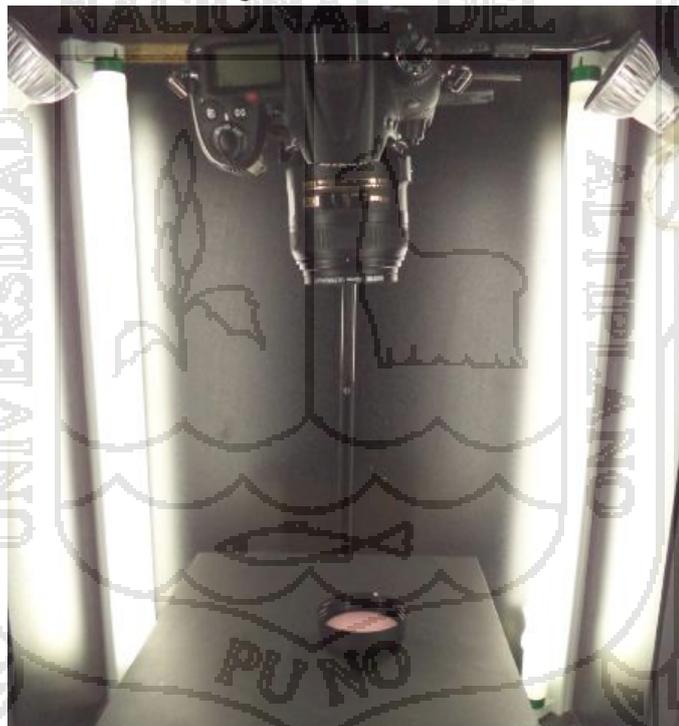
**Imagen 3.** Medición del color de la leche coloreada con semillas de ayrampo (*Tunilla Soehrensii* Britt & Rose) con colorímetro SC 20 en el sistema CIEL\*a\*b.



**Imagen 4.** Muestra de leche coloreada con semillas ayrampo (*Tunilla Soehrensii* Britt & Rose) para la medición del color con el modelo RGB.



**Imagen 5.** Toma de imagen del modelo de color RGB.



**Imagen 6.** Preparación de placas para el análisis microbiológico del yogurt.



**Imagen 7.** Muestras de yogurt con y sin colorante.

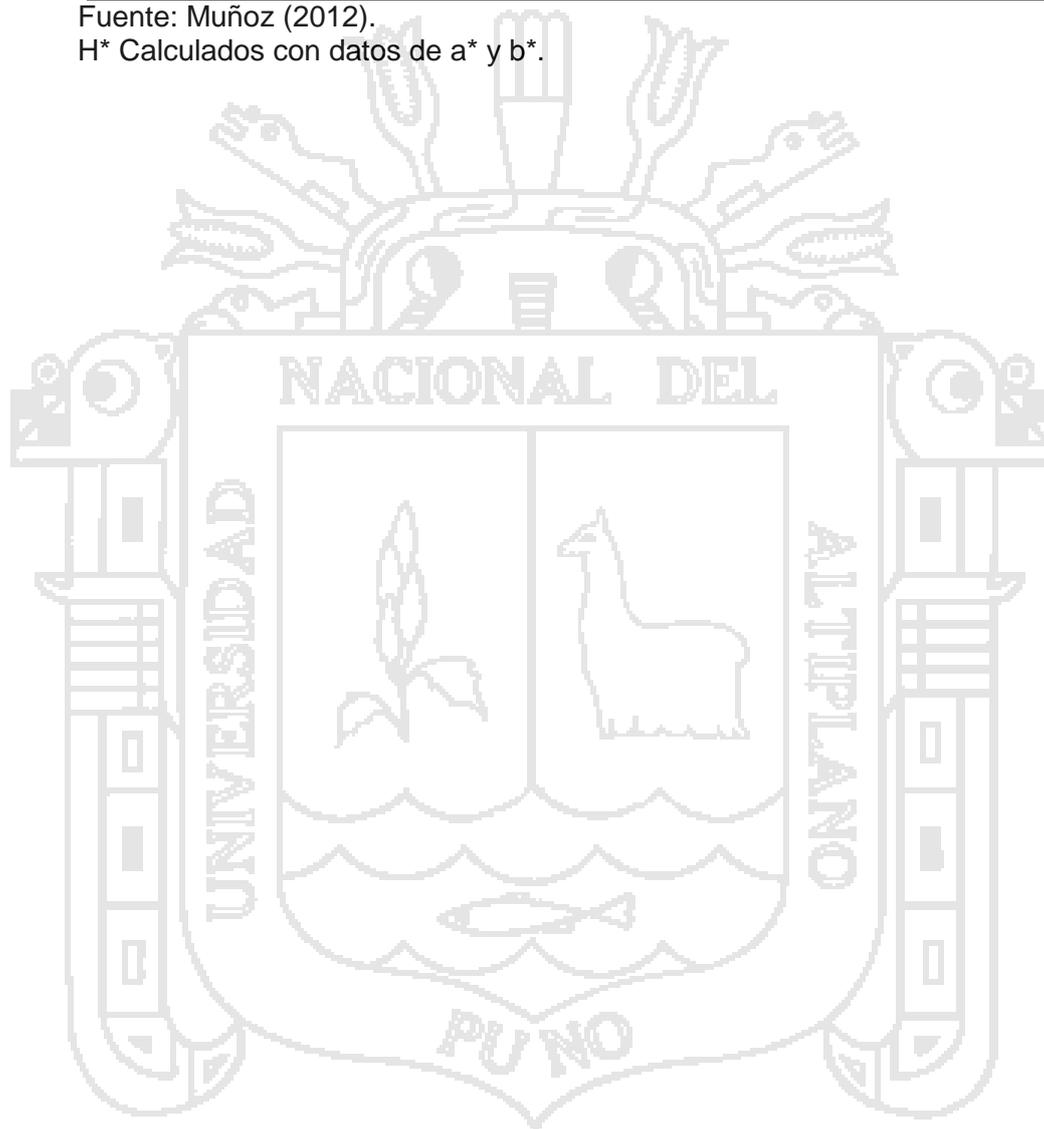


**Anexo 65. L/BIX al 0.05% + agua + leche**

% Agua	L*	a*	b*	C*	H*
6.66	84.1	11.13	37.18	38.81	73.33
23.33	83.28	11.69	38.82	40.54	73.24
40	82.18	12.36	40.82	42.65	73.15
56.67	80.29	13.28	43.59	45.57	73.06
74.33	76.84	14.33	46.95	49.09	73.03
90	66.39	14.47	48.09	50.22	73.25
<b>Leche</b>	93.34	-1.13	9.2	9.27	97.00

Fuente: Muñoz (2012).

H\* Calculados con datos de a\* y b\*.





Anexo 66. Resultados del análisis microbiológico del yogurt

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO-PUNO  
 FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
 Escuela profesional de Ingeniería Agroindustrial  
 Laboratorio de Microbiología

**INFORME DE ENSAYO MICROBIOLÓGICO N° 01-012/15**

- I. **Datos de solicitante**  
 Nombres y Apellidos : Yury Huayta Flores  
 Dirección : Jr. Palomani Nro. 347
- II. **Datos del servicio**  
 N° de Solicitud del Servicio : 01-012/YHF  
 Fecha de ingreso : 21 de Octubre, 2015  
 Servicio solicitado : Análisis microbiológico
- III. **Nombre del producto** : Yogurt
- IV. **Datos de la muestra**  
 Presentación : Envase de vidrio con lámina de aluminio 200 ml  
 Tipo de sistema : 1/Composito.  
 Fecha de producción : N/P  
 Fecha de vencimiento : N/P  
 Tamaño de lote : N/P
- V. **Aspectos técnicos del muestreo**  
 Muestreado por : El solicitante  
 Condición de muestreo : Muestra recibida en laboratorio  
 Detalle de la muestra : Yogurth sin y con colorante  
 N° de unidades de la muestra : Dos (02) muestra de 200 ml  
 Código de la muestra : M1, M2  
 Para ensayo en Laboratorio : 01-12/15  
 Identificación de la muestra : Sin muestra dirimente
- VI. **Fecha de ensayo** : 21 de Octubre, 2015

VII. **Resultados**

DETALLE DE LA MUESTRA

CODIGO	PRODUCTO
M1	Yogurt con colorante
M2	Yogurt sin colorante

ANALISIS MICROBIOLÓGICO

REQUISITOS	VALOR OBTENIDO	
	M1	M2
Coliformes (ufc/g)	Negativo	Negativo
Levaduras (ufc/g)	$7 \times 10^4$	$5.1 \times 10^4$
Mohos (ufc/g)	Negativo	Negativo



*[Signature]*  
 Dr. Alejandro Coloma Paxi  
 Jefe de Laboratorio de Microbiología

**Anexo 67.** Observaciones con el sistema CIEL\*a\*b**Observaciones 1.** Lightness %(L) de la primera etapa

Tratamientos	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
T1(2g/L, 3 min)	67.0	66.9	67.0	66.9	67.0	67.0	67.1	67.2
T2(2g/L, 6 min)	65.9	65.9	66.0	66.2	65.9	66.0	66.9	66.0
T3(2g/L, 9 min)	67.2	67.1	67.0	67.1	67.0	66.7	67.3	67.3
T4(4g/L, 3 min)	62.4	62.9	62.4	62.8	62.8	63.0	62.9	63.0
T5(4g/L, 6 min)	55.3	55.1	55.4	55.5	55.3	55.4	55.6	55.8
T6(4g/L, 9 min)	59.6	59.7	59.8	59.5	60.0	59.4	60.3	60.2
T7(6g/L, 3 min)	60.0	60.0	59.8	60.2	60.0	60.3	60.0	60.3
T8(6g/L, 6 min)	56.2	56.2	56.2	55.6	56.2	56.3	56.4	56.5
T9(6g/L, 9 min)	55.9	56.2	56.4	56.4	56.6	56.4	56.5	56.7

**Observaciones 2.** Croma (C) de la primera etapa

Tratamientos	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
T1(2g/L, 3 min)	20.9	20.9	20.8	20.9	20.5	20.1	20.6	19.9
T2(2g/L, 6 min)	24.5	24.3	24.4	24.0	24.1	24.4	24.1	24.0
T3(2g/L, 9 min)	25.4	25.1	25.2	25.0	25.2	24.6	25.1	24.8
T4(4g/L, 3 min)	29.6	29.1	29.3	28.7	29.0	28.9	29.1	28.5
T5(4g/L, 6 min)	30.5	30.6	30.4	30.0	30.1	30.2	29.3	29.6
T6(4g/L, 9 min)	35.4	35.5	34.6	35.1	34.8	33.7	33.3	33.8
T7(6g/L, 3 min)	34.0	34.0	34.0	33.7	33.5	33.5	33.6	33.3
T8(6g/L, 6 min)	38.4	37.8	38.4	37.4	38.1	37.6	37.7	37.4
T9(6g/L, 9 min)	41.3	40.4	40.2	40.7	40.2	39.8	39.9	39.5

**Observaciones 3.** Hue (H°) de la primera etapa

Tratamientos	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
T1(2g/L, 3 min)	327.8	327.9	327.4	327.9	327.9	328.4	328.3	327.8
T2(2g/L, 6 min)	326.8	326.4	326.8	327.1	328.3	327.9	327.2	326.8
T3(2g/L, 9 min)	326.8	326.1	326.1	326.8	326.1	326.6	326.1	326.4
T4(4g/L, 3 min)	327.3	327.5	327.6	326.5	327.2	327.1	327.5	327.5
T5(4g/L, 6 min)	328.7	328.7	328.7	329.1	329.1	328.3	329.1	328.6
T6(4g/L, 9 min)	328.1	328.3	327.7	327.5	328.3	328.4	327.7	328.5
T7(6g/L, 3 min)	327.7	327.7	327.5	328.3	327.7	328	327.1	327.7
T8(6g/L, 6 min)	328.7	328.7	328.7	329.2	328.2	329.3	328.7	328.4
T9(6g/L, 9 min)	329.4	328.6	328.3	328.3	328.5	328.6	328.8	328.5

**Observaciones 4.** Lightness %*(L)* de la segunda etapa

Tratamientos	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
P1(63°C/1800 s)	66	66.8	66.2	65.6	66.9	66.9	66.7	66.9
P2(72°C/15 s)	57.1	57.3	57.3	57.3	57.3	56.2	56.8	57.2
P3(89°C/1 s)	63.5	62.8	63.1	63.3	63	63.3	63.9	63.7

**Observaciones 5.** Croma (C) de la segunda etapa

Tratamientos	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
P1(63°C/1800 s)	21.9	21.3	21.9	22	20.9	21.4	21	20.9
P2(72°C/15 s)	24	24.1	23.6	24.1	23.6	23.5	23.8	22.9
P3(89°C/1 s)	24.4	24.8	24.2	24.4	24.1	23.9	23.9	23.3

**Observaciones 6.** Hue (H°) de la segunda etapa

Tratamientos	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
P1(63°C/1800 s)	327.8	327.4	327.6	326.1	327.9	327.8	327.9	327.9
P2(72°C/15 s)	329.2	329.6	329.7	329.6	329.7	330.1	329.8	330.8
P3(89°C/1 s)	328.3	327.7	327.6	328.4	328.5	328.4	328.6	328.3

**Observaciones 7.** Lightness %*(L)* de la tercera etapa

Tratamientos	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
(0 días, Con colorante)	61.9	61.9	61.8	61.6	61.5	61.6	61.2	61.6
(0 días, Sin colorante)	67.3	67.2	67.3	67.3	67.3	67.3	67.1	67.2
(8 días, Con colorante)	53.8	53.8	53.8	53.4	53.6	53.9	53.6	53.8
(8 días, Sin colorante)	72.2	72.1	72.1	72.1	71.9	72.3	72.3	72.2
(15 días, Con colorante)	65.5	64.1	63.3	61.9	62.0	61.6	61.0	61.1
(15 días, Sin colorante)	74.8	74.5	74.5	74.4	74.5	74.5	74.6	74.5

**Observaciones 8.** Croma (C) de la tercera etapa

Tratamientos	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
(0 días, Con colorante)	14.9	14.9	14.9	14.9	15.2	14.7	15.5	15.0
(0 días, Sin colorante)	5.6	5.2	5.6	5.5	5.4	5.3	5.2	5.6
(8 días, Con colorante)	15.8	15.2	15.0	15.1	14.7	14.3	14.4	14.7
(8 días, Sin colorante)	5.5	5.8	6.0	5.8	5.8	5.8	5.8	5.9
(15 días, Con colorante)	15.2	14.7	14.3	14.6	14.1	14.5	14.6	14.4
(15 días, Sin colorante)	6.1	6.1	5.8	5.9	6.1	6.1	6.0	6.1

**Observaciones 9.** Hue (H°) de la tercera etapa

Tratamientos	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
(0 días, Con colorante)	352.0	352.0	352.1	352.2	351.0	351.8	351.5	350.5
(0 días, Sin colorante)	78.3	77.9	78.3	80.5	73.5	75.6	78.1	78.5
(8 días, Con colorante)	351.2	352.4	352.0	352.2	353.8	353.1	353.4	353.7
(8 días, Sin colorante)	76.1	80.4	84.2	78.5	80.5	78.3	78.3	76.6
(15 días, Con colorante)	354.9	356.3	356.0	355.3	356.3	355.2	355.6	355.2
(15 días, Sin colorante)	83.5	85.4	83.7	83.8	87.2	87.2	87.1	87.2

**Anexo 68.** Observaciones con modelo de color HSL

**Observaciones 10.** Tonalidad (H) de la primera etapa

Tratamientos	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
T1(2g/L, 3 min)	231.46	230.81	233.09	230.81	230.71	232.42	233.09	230.81
T2(2g/L, 6 min)	229.03	229.03	229.62	229.62	231.39	231.13	230.21	228.80
T3(2g/L, 9 min)	231.98	231.98	231.71	231.13	231.39	231.65	229.97	229.97
T4(4g/L, 3 min)	227.19	227.91	227.19	228.24	227.19	227.72	226.67	226.67
T5(4g/L, 6 min)	225.90	225.43	225.90	225.75	225.75	225.90	225.90	225.75
T6(4g/L, 9 min)	225.12	225.00	225.00	225.42	224.58	224.70	224.70	224.70
T7(6g/L, 3 min)	225.81	225.08	225.51	225.08	225.81	225.08	225.08	225.08
T8(6g/L, 6 min)	221.76	222.18	222.31	218.00	222.31	224.20	221.76	221.76
T9(6g/L, 9 min)	217.07	217.07	216.24	216.70	216.75	216.32	216.28	216.75

**Observaciones 11.** Saturación (S) de la primera etapa

Tratamientos	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
T1(2g/L, 3 min)	141.67	139.29	138.31	139.29	132.77	138.31	136.00	141.67
T2(2g/L, 6 min)	166.91	170.00	148.06	148.06	148.06	167.70	166.91	170.78
T3(2g/L, 9 min)	145.71	150.49	167.70	151.34	145.71	142.56	151.34	151.34
T4(4g/L, 3 min)	217.42	208.16	212.94	212.94	217.42	212.94	212.94	217.42
T5(4g/L, 6 min)	225.58	217.22	225.58	217.57	221.64	221.32	225.58	217.57
T6(4g/L, 9 min)	227.92	228.16	224.22	228.16	232.23	227.92	227.92	232.03
T7(6g/L, 3 min)	227.43	227.18	231.39	227.18	231.61	231.39	227.18	231.39
T8(6g/L, 6 min)	255.00	255.00	250.19	255.00	250.19	237.56	255.00	255.00
T9(6g/L, 9 min)	255.00	255.00	255.00	255.00	255.00	255.00	255.00	255.00

**Observaciones 12.** Luminosidad (L) de la primera etapa

Tratamientos	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
T1(2g/L, 3 min)	196.50	195.50	196.00	195.50	194.50	196.00	195.00	196.50
T2(2g/L, 6 min)	200.00	201.00	193.00	193.00	193.00	199.50	200.00	200.50
T3(2g/L, 9 min)	192.00	194.00	199.50	193.50	192.00	191.50	193.50	193.50
T4(4g/L, 3 min)	207.50	206.00	206.50	206.50	207.50	206.50	206.50	207.50
T5(4g/L, 6 min)	203.00	201.00	203.00	200.50	201.50	202.00	203.00	200.50
T6(4g/L, 9 min)	198.50	198.00	197.00	198.00	199.00	198.50	198.50	199.50
T7(6g/L, 3 min)	199.50	200.00	201.00	200.00	200.50	201.00	200.00	201.00
T8(6g/L, 6 min)	204.50	204.50	202.00	212.50	202.00	196.50	204.50	204.50
T9(6g/L, 9 min)	208.50	208.50	209.50	209.50	210.00	210.50	210.00	210.00

**Observaciones 13.** Tonalidad (H) de la segunda etapa

Tratamientos	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
P1(63°C/1800 s)	231.23	230.82	230.09	230.82	230.82	230.82	230.82	230.82
P2(72°C/15 s)	227.50	226.88	226.88	226.88	226.88	226.88	226.88	226.88
P3(89°C/1 s)	228.99	227.77	227.77	227.77	227.77	227.77	227.77	227.77

**Observaciones 14.** Saturación (S) de la segunda etapa

Tratamientos	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
P1(63°C/1800 s)	185.74	180.37	180.37	180.37	180.37	180.37	180.37	180.37
P2(72°C/15 s)	201.63	227.05	227.05	227.05	227.05	227.05	227.05	227.05
P3(89°C/1 s)	201.00	226.67	226.67	226.67	226.67	226.67	226.67	226.67

**Observaciones 15.** Luminosidad (L) de la segunda etapa

Tratamientos	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
P1(63°C/1800 s)	214.50	214.00	214.00	214.00	214.00	214.00	214.00	214.00
P2(72°C/15 s)	212.00	218.50	218.50	218.50	218.50	218.50	218.50	218.50
P3(89°C/1 s)	212.50	219.00	219.00	219.00	219.00	219.00	219.00	219.00

**Observaciones 16.** Tonalidad (H) de la tercera etapa

Tratamientos	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
(0 días, Con colorante)	251.81	251.89	250.95	250.95	250.95	251.81	251.81	251.81
(0 días, Sin colorante)	37.60	37.60	37.60	39.10	39.10	37.60	36.43	37.78
(8 días, Con colorante)	251.81	251.81	250.85	250.85	250.75	250.75	251.89	250.75
(8 días, Sin colorante)	39.10	38.96	39.10	39.10	39.10	38.96	38.96	39.10
(15 días, Con colorante)	4.86	5.00	5.00	3.75	4.86	3.75	4.86	4.86
(15 días, Sin colorante)	35.65	35.86	34.53	34.53	35.65	35.86	35.86	34.53

**Observaciones 17.** Saturación (S) de la tercera etapa

Tratamientos	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
(0 días, Con colorante)	137.84	123.00	124.53	124.53	121.70	137.84	137.84	130.77
(0 días, Sin colorante)	72.07	72.07	72.07	68.55	68.55	72.07	68.65	74.03
(8 días, Con colorante)	118.60	118.60	123.00	123.00	118.60	118.60	123.00	118.60
(8 días, Sin colorante)	59.58	57.74	60.71	60.71	59.58	57.74	57.74	60.71
(15 días, Con colorante)	88.37	86.70	86.70	86.70	88.37	86.70	88.37	88.37
(15 días, Sin colorante)	78.27	81.60	81.60	81.60	78.27	81.60	81.60	81.60

**Observaciones 18.** Luminosidad (L) de la tercera etapa

Tratamientos	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
(0 días, Con colorante)	218.00	212.50	212.00	212.00	211.00	218.00	218.00	216.00
(0 días, Sin colorante)	209.00	209.00	209.00	208.50	208.50	209.00	203.00	208.50
(8 días, Con colorante)	212.00	212.00	212.50	212.50	212.00	212.00	212.50	212.00
(8 días, Sin colorante)	201.50	202.00	202.50	202.50	201.50	202.00	202.00	202.50
(15 días, Con colorante)	204.50	205.00	205.00	205.00	204.50	205.00	204.50	204.50
(15 días, Sin colorante)	204.50	205.00	205.00	205.00	204.50	205.00	205.00	205.00

### Anexo 69. Programación Macros de Excel para convertir los parámetros de color RGB a HSL

#### Option Explicit

---

```

Sub RGBaHSL()
    Dim R As Long, G As Long, B As Long
    Dim R1 As Single, G1 As Single, B1 As Single
    Dim CMax As Single, CMin As Single, Chroma As Single
    Dim Numero As Double, Divisor As Double, n As Double, d As Double
    Dim Teinte As Single, Saturation As Single, Luminosite As Single
    Dim Matiz As Single, Saturacion As Double, Luminosidad As Double

    R = Selection.Offset(0, 1).Value
    G = Selection.Offset(0, 2).Value
    B = Selection.Offset(0, 3).Value

    R1 = R / 255
    G1 = G / 255
    B1 = B / 255

    CMax = Application.Max(R1, G1, B1)
    CMin = Application.Min(R1, G1, B1)
    Chroma = CMax - CMin

    If CMax = R1 Then
        Numero = ((G1 - B1) / Chroma)
        Divisor = 6
        Teinte = XMod(Numero, Divisor) * 60
    End If
    If CMax = G1 Then
        Teinte = (((B1 - R1) / Chroma) + 2) * 60
    End If
    If CMax = B1 Then
        Teinte = (((R1 - G1) / Chroma) + 4) * 60
    End If

    Luminosite = (CMax + CMin) / 2

    If Chroma = 0 Then
        Saturation = 0
    
```

```

Else
    Saturation = Chroma / (1 - Abs((2 * Luminosite) - 1))
End If

Saturacion = Saturation * 255
Luminosidad = Luminosite * 255
Matiz = Teinte * 255 / 360

Selection.Offset(0, 0).Interior.Color = RGB(R, G, B)
Selection.Offset(0, 4).Value = R1
Selection.Offset(0, 5).Value = G1
Selection.Offset(0, 6).Value = B1
Selection.Offset(0, 7).Value = Selection.Interior.Color
Selection.Offset(0, 8).Value = CMax
Selection.Offset(0, 9).Value = CMin
Selection.Offset(0, 10).Value = Chroma
Selection.Offset(0, 11).Value = Teinte
Selection.Offset(0, 12).Value = Saturation
Selection.Offset(0, 13).Value = Luminosite
Selection.Offset(0, 14).Value = Matiz
Selection.Offset(0, 15).Value = Saturacion
Selection.Offset(0, 16).Value = Luminosidad

Selection.Offset(1, 0).Select
End Sub

```

```

Function XLMod(n, d)
    XLMod = n - d * Int(n / d)
End Function

```

**Anexo 70.** Tabla de colores

Nombre HTML	Código hex	Código decimal	Código
	R G B	R G B	H S L
<b>Colores rojos</b>			
IndianRed	CD5C5C	205 92 92	0° 53% 58%
LightCoral	F08080	240 128 128	0° 79% 72%
Salmon	FA8072	250 128 114	6° 93% 71%
DarkSalmon	E9967A	233 150 122	15° 72% 70%
LightSalmon	FFA07A	255 160 122	17° 100% 74%
Crimson	DC143C	220 20 60	348° 83% 47%
Red	FF0000	255 0 0	0° 100% 50%
FireBrick	B22222	178 34 34	0° 68% 42%
DarkRed	8B0000	139 0 0	0° 100% 27%



**Colores púrpuras**

Lavender	E6E6FA	230 230 250	240° 67% 94%
Thistle	D8BFD8	216 191 216	300° 24% 80%
Plum	DDA0DD	221 160 221	300° 47% 75%
Violet	EE82EE	238 130 238	300° 76% 72%
Orchid	DA70D6	218 112 214	302° 59% 65%
Fuchsia / Magenta	FF00FF	255 0 255	300° 100% 50%
MediumOrchid	BA55D3	186 85 211	288° 59% 58%
MediumPurple	9370DB	147 112 219	260° 60% 65%
BlueViolet	8A2BE2	138 43 226	271° 76% 53%
DarkViolet	9400D3	148 0 211	282° 100% 41%
DarkOrchid	9932CC	153 50 204	280° 61% 50%
DarkMagenta	8B008B	139 0 139	300° 100% 27%
Purple	800080	128 0 128	300° 100% 25%
Indigo	4B0082	75 0 130	275° 100% 25%
SlateBlue	6A5ACD	106 90 205	248° 53% 58%
DarkSlateBlue	483D8B	72 61 139	248° 39% 39%

**Colores rosas**

Pink	FFC0CB	255 192 203	350° 100% 88%
LightPink	FFB6C1	255 182 193	351° 100% 86%
HotPink	FF69B4	255 105 180	330° 100% 71%
DeepPink	FF1493	255 20 147	328° 100% 54%
MediumVioletRed	C71585	199 21 133	322° 81% 43%
PaleVioletRed	DB7093	219 112 147	340° 60% 65%

**Anexo 71.** Resultado de la repetición del análisis microbiológico (levaduras) del yogurt con colorante y sin colorante

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO-PUNO  
 FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
 Escuela profesional de Ingeniería Agroindustrial  
 Laboratorio de Microbiología

**INFORME DE ENSAYO MICROBIOLÓGICO Nº 01-001/16**

- I. **Datos de solicitante**  
 Nombres y Apellidos : Yury Huayta Flores  
 Dirección : Jr. Palomani Nro. 347
- II. **Datos del servicio**  
 Nº de Solicitud del Servicio : 01-001/YHF  
 Fecha de ingreso : 12 de Enero, 2016  
 Servicio solicitado : Análisis microbiológico
- III. **Nombre del producto** : Yogurt
- IV. **Datos de la muestra**  
 Presentación : Envase de vidrio con lámina de aluminio 200 mL  
 Tipo de sistema : 1/Composito.  
 Fecha de producción : N/P  
 Fecha de vencimiento : N/P  
 Tamaño de lote : N/P
- V. **Aspectos técnicos del muestreo**  
 Muestreado por : El solicitante  
 Condición de muestreo : Muestra recibida en laboratorio  
 Detalle de la muestra : Yogurt sin y con colorante  
 Nº de unidades de la muestra : Dos (02) muestra de 200 mL  
 Código de la muestra : M1, M2  
 Para ensayo en Laboratorio : 01-001/16  
 Identificación de la muestra : Sin muestra dirimente
- VI. **Fecha de ensayo** : 12 de Enero, 2016
- VII. **Resultados**

DETALLE DE LA MUESTRA

CODIGO	PRODUCTO
M1	Yogurt con colorante
M2	Yogurt sin colorante

ANALISIS MICROBIOLÓGICO

REQUISITOS	VALOR OBTENIDO			
	M1- 0 días	M2 - 0 días	M1 - 6 días	M2 - 6 días
Levaduras (ufc/ml)	$1,0 \times 10^4$	$9,6 \times 10^3$	$7,9 \times 10^3$	$1,0 \times 10^4$



Dr. Alejandro Coloma Paxi  
 Jefe de Laboratorio de Microbiología

Anexo 72. Gráfica en el sistema CIEL\*a\*b

