



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS**

**CARRERA DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS PECUARIAS**

**EL ACHIOTE (*Bixa orellana*) COMO ANTIMICROBIANO Y  
ANTIOXIDANTE NATURAL PARA LA INDUSTRIA CÁRNICA**

**Trabajo de titulación**

**Tipo:** Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

**INGENIERA EN INDUSTRIAS PECUARIAS**

**AUTORA:** SELIA PAOLA CORONEL CORONEL

**DIRECTOR:** ING. JOSÉ MIGUEL MIRA VÁSQUEZ, PhD.

Riobamba – Ecuador

2020

© 2020, Selia Paola Coronel Coronel

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, Selia Paola Coronel Coronel, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación; El patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 24 de septiembre de 2020.

**Selia Paola Coronel Coronel**

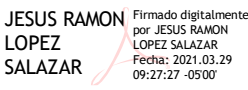
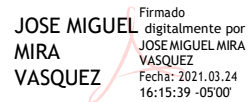
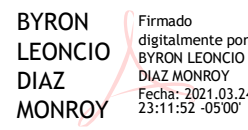
**0604656694**

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS**

**CARRERA DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS PECUARIAS**

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo de titulación: Tipo: Proyecto de Investigación, **EL ACHIOTE (*Bixa orellana*) COMO ANTIMICROBIANO Y ANTIOXIDANTE NATURAL PARA LA INDUSTRIA CÁRNICA**, realizado por la señorita: **SELIA PAOLA CORONEL CORONEL**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Ing. Jesús Ramón López Salazar MsC. <b>PRESIDENTE DEL TRIBUNAL</b>	 Firmado digitalmente por JESUS RAMON LOPEZ SALAZAR Fecha: 2021.03.29 09:27:27 -0500	2021-03-04
Ing. José Miguel Mira Vásquez PhD. <b>DIRECTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN</b>	 Firmado digitalmente por JOSE MIGUEL MIRA VASQUEZ Fecha: 2021.03.24 16:15:39 -0500	2021-03-04
Ing. Byron Leoncio Díaz Monroy PhD. <b>MIEMBRO DEL TRIBUNAL</b>	 Firmado digitalmente por BYRON LEONCIO DIAZ MONROY Fecha: 2021.03.24 23:11:52 -0500	2021-03-04

## **DEDICATORIA**

A mis padres Julio Coronel y Rosario Coronel, por haber forjado la persona que soy y por su apoyo incondicional tanto moral como económico en toda mi formación académica, a mis hermanos y toda mi familia que me apoyaron a lo largo de mi formación, también dedico a todos mis maestros que formaron parte de mi vida estudiantil y aportaron con un granito de arena para enriquecer mi conocimiento y que de una u otra manera aportaron en la formación de la persona que soy actualmente.

Selia

## **AGRADECIMIENTO**

Primero agradezco a Dios por haberme proporcionado todo lo que me rodea, y permitirme gozar de buena salud a mí y a mi familia en estos tiempos difíciles, gracias también a toda mi familia por el apoyo incondicional en cada uno de mis proyectos, gracias a mi tutor el Ing. Miguel Mira y a mi asesor el Ing. Byron Díaz por guiarme en la realización de mi trabajo, finalmente agradezco a mis amigos que de una u otra manera han estado presentes en todo el periodo de mi formación.

Selia

## TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS .....	xii
RESUMEN .....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
INTRODUCCIÓN .....	1

## CAPÍTULO I

1.	<b>MARCO TEÓRICO REFERENCIAL .....</b>	<b>2</b>
1.1	<b>Carne y productos cárnicos .....</b>	<b>2</b>
1.1.1	<i>Definición de Carne .....</i>	<i>2</i>
1.1.2	<i>Composición química de la carne .....</i>	<i>2</i>
1.1.3	<i>Características nutricionales de la carne .....</i>	<i>3</i>
1.1.4	<i>Definición de productos cárnicos.....</i>	<i>4</i>
1.1.5	<i>Clasificación de productos cárnicos.....</i>	<i>4</i>
1.1.6	<i>Producción de productos cárnicos a nivel mundial .....</i>	<i>5</i>
1.1.7	<i>Producción nacional de productos cárnicos .....</i>	<i>6</i>
1.2	<b>Descripción y características del Achiote .....</b>	<b>7</b>
1.2.1	<i>Características de la planta de achiote.....</i>	<i>7</i>
1.2.2	<i>Características del fruto y la semilla de achiote .....</i>	<i>8</i>
1.2.3	<i>Requerimientos edafoclimáticos.....</i>	<i>8</i>
1.2.4	<i>Variedades de achiote.....</i>	<i>9</i>
1.2.5	<i>Usos del achiote .....</i>	<i>9</i>
1.2.6	<i>Composición química .....</i>	<i>11</i>
1.2.7	<i>Los carotenoides .....</i>	<i>13</i>
1.2.7.1	<i>Los carotenos .....</i>	<i>13</i>

1.2.8	<i>Carotenoides presentes en Bixa orellana (achiote)</i> .....	14
1.2.9	<i>Relación de los carotenoides y la salud humana</i> .....	14
1.2.10	<i>Métodos de extracción del colorante de la semilla de achiote</i> .....	15
1.2.11	<i>Métodos de evaluación de la actividad antioxidante</i> .....	16
1.2.12	<i>Acción antioxidante in vitro del achiote</i> .....	18
1.2.13	<i>Acción antioxidante del achiote en productos cárnicos</i> .....	21
1.2.14	<i>Métodos de evaluación de la actividad antimicrobiana</i> .....	24
1.2.15	<i>Acción antimicrobiana in vitro del achiote</i> .....	25
1.2.16	<i>Acción antimicrobiana en productos cárnicos</i> .....	27

## **CAPITULO II**

2.	<b>MARCO METODOLÓGICO</b> .....	31
2.1	<b>Búsqueda de la bibliografía</b> .....	31
2.2	<b>Criterios de selección</b> .....	31
2.3	<b>Métodos para sistematización de la información</b> .....	31

## **CAPITULO III**

3.	<b>MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS</b> .....	32
3.1	<b>Acción antioxidante in vitro del achiote</b> .....	32
3.2	<b>Acción antioxidante del achiote en productos cárnicos</b> .....	33
3.3	<b>Acción antimicrobiana in vitro del achiote</b> .....	35
3.4	<b>Acción antimicrobiana en productos cárnicos</b> .....	36
3.5	<b>Características relevantes del estudio</b> .....	37

	<b>CONCLUSIONES</b> .....	39
--	---------------------------	----

	<b>RECOMENDACIONES</b> .....	40
--	------------------------------	----

## **GLOSARIO**



**BIBLIOGRAFÍA**

**ANEXOS**

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1:</b>	Composición química de las carnes (100 gramos) .....	3
<b>Tabla 2-1:</b>	Composición de algunas carnes por cada 100 g .....	3
<b>Tabla 3-1:</b>	Producción de elaborados cárnicos en España (tm).....	5
<b>Tabla 4-1:</b>	Componentes de la semilla de achiote.....	11
<b>Tabla 5-1:</b>	Actividad farmacológica de la <i>Bixa orellana</i> y su relación con su composición química .....	12
<b>Tabla 6-1:</b>	Composición nutricional de la semilla de achiote .....	12
<b>Tabla 7-1:</b>	Concentración del radical DPPH* capturado por la solución etanólico de flavonoides totales de las hojas de achiote .....	19
<b>Tabla 8-1:</b>	Actividad antioxidante del extracto de achiote por el método DPPH .....	20
<b>Tabla 9-1:</b>	Degradación de los compuestos fenólicos y actividad antioxidante del extracto de la semilla de achiote.....	21
<b>Tabla 10-1:</b>	Efectos del polvo de la semilla de achiote sobre las propiedades fisicoquímicas de salchichas de cerdo.....	22
<b>Tabla 11-1:</b>	Propiedades de las empanadas de cerdo con polvo de semilla de achiote .....	23
<b>Tabla 12-1:</b>	Acción antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de las hojas de achiote sobre <i>Streptococcus mutans</i> .....	26
<b>Tabla 13-1:</b>	Resultados microbiológicos de salchicha Frankfurt con diferentes concentraciones de nitrito de sodio y <i>Bixa orellana</i> .....	28
<b>Tabla 14-1:</b>	Resultados microbiológicos del chorizo elaborado aplicando el colorante natural achiote .....	29
<b>Tabla 15-1:</b>	Resultados microbiológicos de las longanizas elaboradas aplicando el colorante natural achiote.....	30
<b>Tabla 16-3:</b>	Resumen de la actividad antioxidante in vitro del achiote según varios autores .	32
<b>Tabla 17-3:</b>	Efecto antioxidante del achiote en productos cárnicos .....	34
<b>Tabla 18-3:</b>	Resumen de la acción antibacteriana in vitro del achiote según varios autores ...	35
<b>Tabla 19-3:</b>	Acción antibacteriana del achiote en productos cárnicos .....	36
<b>Tabla 20-3:</b>	Características relevantes del uso de achiote en salchichas .....	38

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1-1:</b> Volumen de producción de productos procesados por categorías .....	6
--	---

## **ÍNDICE DE ANEXOS**

- ANEXO A:** FORMULACIÓN DE SALCHICHAS HOT DOG
- ANEXO B:** FORMULACIÓN DE SALCHICHAS DE CERDO
- ANEXO C:** FORMULACIÓN DE LAS EMPANADAS DE CERDO CON POLVO DE SEMILLA DE ACHIOTE
- ANEXO D:** COMPONENTES FOTOQUÍMICOS Y PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DEL POLVO DE SEMILLA DE ANNATTO
- ANEXO E:** FORMULACIÓN DE SALCHICHAS FRANKFURT
- ANEXO F:** FORMULACIÓN DE CHORIZO Y LONGANIZA
- ANEXO G:** RESUMEN DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL CHORIZO Y LONGANIZA RESPECTO AL REGLAMENTO TÉCNICO CENTROAMERICANO

## RESUMEN

En esta investigación se recopiló información sobre el efecto antioxidante y antimicrobiano del achiote (*Bixa orellana*) y se evaluó su uso en la industria cárnica, también se identificó los aspectos más relevantes de este colorante en productos cárnicos, para el análisis de la presente investigación se seleccionaron los artículos que se encuentran publicados en plataformas confiables como google académico, revistas científicas digitales y repositorios de las universidades, también se tomó en cuenta la fecha de publicación seleccionando aquellos que fueron publicados en los últimos cinco años. Los resultados revelaron la actividad antioxidante del achiote en productos cárnicos a partir de 0.025% en salchichas, mientras que en salchichas de cerdo se puede apreciar que a mayor porcentaje de achiote mejores resultados como antioxidante se obtienen, así al aplicar 0.2% de *Bixa* se tiene un valor de variables de peróxido (POV) de 0.86 mini equivalentes de oxígeno por kilogramo (meq/kg) y un valor de ácido tiobarbitúrico (TBA) de 0.10 mg de malonaldehído por kilogramo (MDA/kg) siendo en ambos casos menores que las salchichas control, también se demostró su poder antioxidante en empanadas de cerdo a partir de 0.10% que mostró un valor 0.95 mg MDA/kg de TBA siendo más bajo que la prueba control 1.53 mg MDA/g, de la misma manera se observó que se puede remplazar nitrito por achiote como antimicrobiano en salchichas inoculadas con *C. perfringens*, así aplicando el 1% de norbixina no se encontraron diferencias significativas con las salchichas control que contenían 120 ppm de nitrito. Para productos crudos se aprecia el efecto antimicrobiano usando 5g/lb en chorizo y 2.5g/lb en longaniza que en el recuento microbiano total en todos los tratamientos es menor a 5 Log UFC/g y ausencia de *Escherichia coli*. En conclusión el achiote posee poder antioxidante y antimicrobiano que puede ser aprovechado en la industria cárnica.

**Palabras clave:** <INDUSTRIA ALIMENTARIA>, <PRODUCTOS CÁRNICOS>, <CONSERVACIÓN>, <ACHIOTE (*Bixa orellana*)>, <ANTIOXIDANTE>, <ANTIBACTERIANO>.

## ABSTRACT

For this research, both, information on the antioxidant and antimicrobial effect of annatto coloring (*Bixa orellana*), as well as, its use in the meat industry was collected and evaluated. In addition, the most relevant aspects of this coloring in meat products were also identified. In order to start with the analysis, research papers published in reliable platforms such as google scholar, digital scientific journals and university repositories were selected. The publication date was also taken into account, therefore, papers published in the last five years were taken into account. The results revealed the antioxidant activity of annatto in meat products from 0.025% in sausages, while in pork sausages it was observed that by applying a higher percentage of annatto, better results as an antioxidant were obtained, thus when applying 0.2% of Bixa there is a value of peroxide variables (POV) of 0.86 mini equivalents of oxygen per kilogram (meq /kg) and a value of thiobarbituric acid (TBA) of 0.10 mg of malonaldehyde per kilogram (MDA/kg) being in both cases less than the control sausages. Its antioxidant power was also demonstrated in pork patties from 0.10% that showed a value of 0.95 mg MDA/kg of TBA. being lower than the control test 1.53 mg MDA/g. In the same way, it was observed that Nitrite can be replaced by annatto as an antimicrobial in sausages inoculated with *C. perfringens*, thus applying 1% norbixin no significant differences were found with the control sausages that contained 120 ppm of nitrite. For raw products, the antimicrobial effect is appreciated using 5g / p in chorizo and 2.5g /p in sausage, which in the total microbial count in all treatments is less than 5 Log CFU /g and absence of *Escherichia coli*. In conclusion, annatto has antioxidant and antimicrobial power that can be used in the meat industry.

**Keywords:** <FOOD INDUSTRY>, <MEAT PRODUCTS>, <CONSERVATION>, <ANNATO (*Bixa orellana*)>, <ANTIOXIDANT>, <ANTIBACTERIAL>.

## INTRODUCCIÓN

La demanda de la sociedad de alimentos saludables, ha llevado a la industria alimentaria a enfocarse más en productos naturales y a tratar de disminuir los químicos en sus procesos de elaboración, y la industria cárnica no se puede quedar fuera de esta nueva corriente. Por lo que busca productos sustitutos a pesar de que ya utiliza aditivos y condimentos naturales como es la canela, pimienta, anís, achiote, nuez moscada, ajo, comino, cebolla y hierbas aromáticas, sin embargo estos productos naturales no solo se pueden utilizar como mejoradores del sabor, olor o color sino también como agentes antimicrobianos y antioxidantes como es el caso del achiote.

El achiote también conocido como annatto tiene origen americano, está compuesto químicamente por treinta y cinco componentes identificados entre los que se encuentran acetato, (Z-E)-farnesilo, acetato de occidentalol, espatulenol, bixina y norbixina, representando la bixina el 80% de los carotenoides por lo que se lo utiliza en la industria como colorante inocuo y de baja toxicidad para el consumo humano. (Medina, 2015, p.10)

Debido a los usos tradicionales que tiene el achiote, se originan investigaciones acerca de sus propiedades revelando así su actividad antimicrobiana y antioxidante en estudios *in vitro* y en estudios *in vivo*. Como mencionan (Lourido y Martinez, 2010, p. 236) y (Dona Vidale *et al.*, 2019, p.37) que en estudios *in vitro*, el achiote presenta propiedades antimicrobianas frente a *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*. También la actividad antioxidante está sustentada por estudios así (Sepúlveda *et al.*, 2016) y (Sepúlveda *et al.*, 2019) demostraron el potencial antioxidante del achiote.

En la industria cárnica también se han realizado estudios *in vivo* que arrojan su efecto inhibitorio para ciertas bacterias como es *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus* entre otras. Estudios realizados por (Ruiz *et al.*, 2014), (Tran *et al.*, 2016) y (Ponce, 2018, p.85) demuestran la actividad antimicrobiana del achiote en diferentes productos cárnicos. Además estudios realizados por (Mercado *et al.*, 2014, p. 35) y (Van Cong *et al.*, 2016) demostraron el poder antioxidante en productos cárnicos.

Basándose en estos estudios, en esta revisión se plantea recopilar información sobre el efecto antimicrobiano y antioxidante del achiote y evaluar su uso en la industria cárnica e identificar los aspectos más relevantes en las investigaciones que se han realizado utilizando achiote en productos cárnicos para recomendar o no su utilización como antimicrobiano.

## CAPÍTULO I

### 1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

#### 1.1 Carne y productos cárnicos

##### 1.1.1 *Definición de Carne*

La (FAO, 2019) define a la carne como “el producto pecuario de mayor valor. Posee proteínas y aminoácidos, minerales, grasas y ácidos grasos, vitaminas y otros componentes bioactivos, así como pequeñas cantidades de carbohidratos. Desde el punto de vista nutricional, la importancia de la carne deriva de sus proteínas de alta calidad, que contienen todos los aminoácidos esenciales, así como de sus minerales y vitaminas de elevada biodisponibilidad.” En cambio el Codex Alimentarius la define como “todas las partes de un animal que han sido dictaminadas como inocuas y aptas para el consumo humano o se destinan para este fin” (Codex Alimentarius, 2015).

##### 1.1.2 *Composición química de la carne*

La carne está compuesta por agua, proteínas, aminoácidos, minerales, grasas y ácidos grasos, vitaminas y otros componentes bioactivos, la cantidad y calidad de cada uno de los componentes va depender de factores como la edad, sexo, raza, alimentación, especie y zona anatómica de cada animal, los consumidores aprecian la carne de acuerdo a la cantidad de grasa intramuscular que contenga debido a que esta brinda a la carne los factores sensoriales más apetecidos por el consumidor (Valero *et al.*, 2010, p.10).

En la tabla 1-1 se observa la composición química de la carne de cuatro especies donde se distingue que la carne de cordero es la que posee más calorías y la de pollo menos calorías que el resto de especies, el contenido de proteínas de las cuatro especies tienen valores similares, en cuanto a la grasa, la carne de cerdo contiene 20.7 g por cada 100 g de carne, siendo el valor más alto y la de pollo dispone de 1.8 g de grasa por cada 100 g de carne siendo la carne que menos grasa tiene de estas cuatro especies (Araneda, 2020).



**Tabla 1-1:** Composición química de las carnes (100 gramos)

<b>CARNES</b>	<b>CALORÍ AS (KCAL)</b>	<b>HUMEDAD (G)</b>	<b>GRASA (G)</b>	<b>GS (G)</b>	<b>GMI (G)</b>	<b>GPI (G)</b>	<b>COLESTEROL (MG)</b>	
VACUNO	174	65	5.7	2.1	2.4	0.2	69	
CORDERO	258	58	16.5	6.9	7.0	1.2	93	
CERDO	293	53	20.7	7.5	9.5	2.3	93	
POLLO	176	67	6.7	1.8	2.4	1.5	83	
MINERALE S			Hierro, Zinc, fosforo, potasio					
VITAMINA			Vitaminas del grupo B					

Fuente: (Araneda, 2020)

### 1.1.3 Características nutricionales de la carne

Según el código alimentario Español (CAE, 2020), las carnes aportan entre un 16-22% de proteínas de alto valor biológico, son una buena fuente de vitaminas del grupo B, principalmente B12, son ricas en hierro de tipo hemo, que presenta una mejor absorción que el hierro no hemo presente en alimentos de origen vegetal, aportan minerales, zinc, potasio, fósforo y en menor cantidad calcio y magnesio. Como se observa en la tabla 2-1 las carnes de las diferentes especies poseen valores considerables de proteína, correspondiéndole el valor más alto a la carne de conejo con el 22% y el valor más bajo a la de cerdo con el 16%.

**Tabla 2-1:** Composición de algunas carnes por cada 100 g

<b>Carne</b>	<b>P</b>	<b>G</b>	<b>Kcal</b>	<b>Col</b>	<b>AGS</b>
Ternera	19,0	11,0	181	70	3,4
Cerdo	16,0	25,0	290	72	11,5
Pollo deshuesado	20,5	4,3	121	87	1,4
Cordero	17,0	19,0	248	78	9,4
Conejo	22,0	8,0	162	65	2,6
Hígado de ternera	19,0	3,8	140	300	1,2

P: proteínas; G: grasas; Kcal: kilocalorías; Col: colesterol; AGS: ácidos grasos saturados

Fuente: (CAE, 2020)

#### **1.1.4 Definición de productos cárnicos**

Se define como producto cárnico al producto alimenticio elaborado parcial o totalmente a base de algún tipo de carne apta para el consumo humano, que mantiene las propiedades de la carne, por tanto así como la carne los productos cárnicos son ricos en proteínas de alto valor biológico, vitaminas y minerales. La legislación española define a los productos cárnicos como “productos elaborados con carne procedente de una o varias especies animales de abasto, aves y caza, con o sin grasa, picadas, adicionadas o no con condimentos, especias y aditivos no sometidos a tratamientos de desecación, cocción ni salazón, embutidos o no” (Legislación española, 2016). Por otro lado la Asociación Nacional de Industrias de la carne de España (ANICE, 2019) conceptualiza los productos cárnicos como “los productos alimenticios preparados, total o parcialmente, con carnes, despojos, grasas y subproductos comestibles, que proceden de los animales de abasto, y que pueden ser completados con aditivos autorizados, condimentos y especias.”

#### **1.1.5 Clasificación de productos cárnicos**

La legislación española da una clasificación de los productos cárnicos agrupándolos en dos grupos, productos crudos y productos tratados con calor, considerando a los productos crudos aquellos que no han sido sometidos a ningún tratamiento térmico, encontrándose en este grupo los productos crudos frescos, crudos fermentados y crudos salados, en cambio los productos tratados con calor son aquellos que han sido sometidos durante el procedimiento a algún tipo de tratamiento térmico ubicándose aquí los productos embutidos y moldeados, piezas integrales curadas y ahumadas, semielaborados, conservas cárnicas y los productos autoestables (Legislación española, 2016).

También Elgoro y Nájera (2008) mencionan que los productos cárnicos se clasifican según su proceso de transformación en:

Productos cárnicos crudos curados en este grupo se encuentran los productos que han sido sometidos a un proceso de maduración en condiciones controladas de temperatura y humedad relativa para lograr una disminución del pH, y del contenido de agua (Elgoro *et al.*, 2008).

Productos cárnicos tratados por el calor aquí se encuentran los productos que han sido sometidos a temperaturas en un rango de 60 a 80°C, para lograr una gelificación de las proteínas de la carne y asegurar la forma nitrosada correspondiente a la mioglobina (Elgoro *et al.*, 2008).

Los productos cárnicos frescos son aquellos que no han sido sometidos a ningún tratamiento ni de desecación ni un tratamiento térmico, por lo tanto tendrán el mismo comportamiento de la carne fresca a la hora de la conservación (Elgoro *et al.*, 2008).

### 1.1.6 Producción de productos cárnicos a nivel mundial

La industria cárnica española es el cuarto sector industrial, llevándole la delantera la industria automovilística, la industria del petróleo y combustibles y la producción y distribución de energía eléctrica, en el sector cárnico existen 3 000 empresas, distribuidas en toda España especialmente en la zona rural, la producción conjunta de todas las empresas ha logrado que el sector cárnico represente el 22.1% de todo el sector alimentario del país (ANICE, 2019).

España en el 2018 produjo 4,5 millones de toneladas de carne porcina destinándose el 60% para consumo directo y el 40% para la industria y 666 632 toneladas de carne de res. Con este volumen de producción España se ubica como el cuarto país productor de carne porcina por detrás de China que produce 48.1% de carne de cerdo de todo el mundo, Estados Unidos con el 10.5% de la producción mundial y Alemania con el 4.9% y seguida de Brasil (3,4%), Rusia (2,7%), Vietnam (2,5%) y Canadá (1,8%). En cuanto al volumen de carne de vacuno España está alejada de los puestos de cabeza de la producción mundial. Mientras que tras la salida del Reino Unido de la UE, España es el primer productor de carne de ovino y caprino, con un 16,9%, seguido de Francia (11,4%), Grecia (9,1%) e Irlanda (8,9%) (ANICE, 2019).

En cuanto a los productos cárnicos España con 1.4 millones de toneladas anuales se ubican en el cuarto lugar de la unión europea por detrás de Alemania, Italia y Francia. En la tabla 3-1 se puede apreciar la producción de elaborados cárnicos en España desde el año 2012 al 2017, observándose el crecimiento paulatino a través de los años.

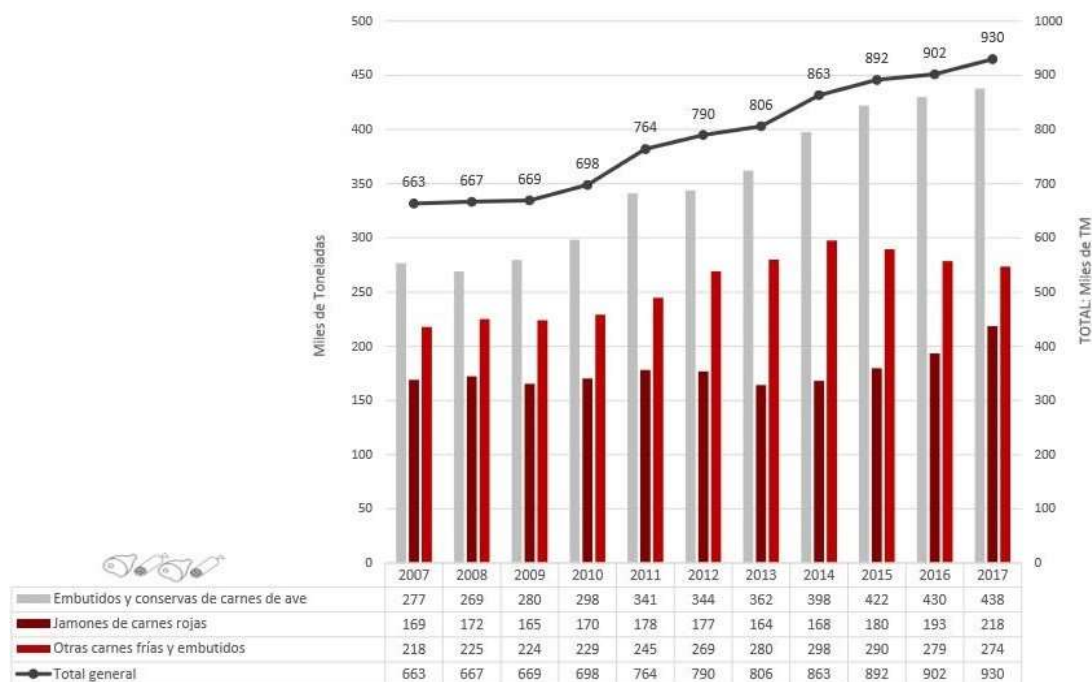
**Tabla 3-1:** Producción de elaborados cárnicos en España (tm)

Producto	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Jamón y paleta curados	247 500	254 00	260 500	273 550	287 000	299 000
Embutidos curados	183 000	186 000	191 000	199 000	203 000	209 000
Jamón y paleta cocidos	176 000	177 500	178 500	177 600	179 000	178 200
Otros tratados por el calor	421 000	417 000	413 000	418 000	423 000	429 800
Productos adobados y frescos	187 200	189 000	191 500	188 200	193 000	197 000
Platos preparados	86 300	87 500	89 200	91 000	95 000	100 000
Total elaborados	1 301 000	1 311 000	1 323 700	1 347 350	1 380 000	1 413 000

Fuente: (ANICE, 2019)

Mientras tanto en México el consumo pre caita de productos cárnicos paso de 7.8 kilogramos de 2011 a 8.6 kilogramos en 2017, según el diario nacional El Universal la salchicha ocupa el primer lugar seguida del jamón, el chorizo y la mortadela (El Universal, 2018).

El compendio estadístico del consejo mexicano de la carne indica cómo ha ido incrementándose el volumen de producción con el paso de los años, así en el 2007 se ha alcanzado una producción de 663 millones de toneladas y diez años más tarde para el 2017 se ha logrado una producción de 930 millones de toneladas de productos procesados (Consejo Mexicano de la carne, 2018, p.25).



**Gráfico 1-1.** Volumen de producción de productos procesados por categorías

**Fuente:** (Consejo Mexicano de la carne, 2018, p.25)

México para el 2019 alcanza producciones de carnes frías y conservas de carne de ave de 514,532 toneadas que representa el 51% de la produccion total de carnes frias, mientras que el volumen de produccion para jamones de carnes rojas fue de 223,431 toneladas que correspnde al 22% y el volumen de otras carnes frias fue de 271,041 toneladas que represnta el 27% de la produccion total (Consejo Mexicano de la carne , 2019).

### 1.1.7 Producción nacional de productos cárnicos

Hasta el 2017 existían en el Ecuador 241 empresas de cárnicos y sus derivados, pero solo 44 de estas están certificadas bajo la norma internacional de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), entre las que se encuentran Pronaca, Fabrica Juris, Avícola Fernández, Piggis, Italimentos y Gruvalcorp (Cárdenas, 2017).

Las ventas de productos embutidos en el Ecuador para 2016 se incrementaron hasta en un 14% para algunas empresas, y de acuerdo a sus reportes financieros se estima la producción anual en más de 30 millones de kilos de embutidos en el país (Cárdenas, 2017). En Ecuador se producen varios productos cárnicos pero los más apetecidos son las mortadelas y las salchichas, estas representan el 75% de la producción nacional de embutidos, seguida del chorizo con el 14%, jamón con el 15% y finalmente las otras presentaciones que representan el 6% de la producción (Flores, 2011, p.78).

Según la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (Ensanut, 2015) los ecuatorianos consumen 142 gramos de carnes y salchichas al día, sin embargo esto varía de acuerdo a la edad y sexo, así los hombres de 31 a 50 años de edad, consumen 183 gramos y las mujeres del mismo rango de edad consumen 144 gramos al día (El Telégrafo, 2015). Sin embargo el INEN para el mismo año establece un consumo per cápita de productos embutidos de tres kilogramos por persona al año.

De acuerdo a la revista Líderes en el Ecuador el consumo de carne más alto para el año 2015, está concentrado en ocho provincias encabezando la lista la provincia de Manabí, seguido de Loja, Pichincha, Azuay, Chimborazo, Tungurahua, Cotopaxi y Carchi (Revista Líderes, 2015).

## **1.2 Descripción y características del Achiote**

### ***1.2.1 Características de la planta de achiote***

Achiote procede de la lengua Náhuatl (lengua azteca), que en español significa semilla de fuego o semilla que brilla, su nombre científico deriva del apellido del explorador Fráncico de Orellana (Trander, 2020). El achiote (*Bixa orellana*) pertenece al reino plantae de la clase magnoliopsida, este arbusto forma parte de la familia Bixaceae y es cultivado en regiones intertropicales de América desde épocas prehispánicas, actualmente se lo cultiva en México, Costa Rica, Colombia, Panamá, Ecuador, Bolivia, Venezuela y Perú y se le suele conocer con diferentes nombres de acuerdo a la región o país que se lo cultive por tanto se lo conoce también como onoto, urucú, bija, orellana, ruco, chanderica, annatto, bijol, urucum entre otros (Salguero, 2017, p.14).

La Bixa es de rápido crecimiento y puede alcanzar una altura de 6 m, soporta temperaturas de 20 a 35°C y una altitud de 100 a 1500 msnm, pero tiene un mejor desarrollo a alturas menores de 500 msnm, posee hojas persistentes verdosas, sus flores son de sexualidad hermafroditas y se desarrollan en ramilletes, tiene pelos glandulares y su tonalidad va de blanquecina a rosada dependiendo de la variedad, su floración no es sincronizada y se da en estación húmeda durando de 3 a 4 meses aproximadamente (Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal, 2015, p.13).

### **1.2.2 Características del fruto y la semilla de achiote**

El fruto de achiote es una cápsula de 2 a 6 cm de largo, cubierta por apéndices o setas que pueden ser largos, medianos y cortos, la coloración de la cápsula difiere según la variedad estas pueden ser de color rojo, café, verde o amarillo. Las capsulas tienen generalmente dos valvas, aunque debido a cruzamientos naturales hay frutos de tres segmentos con paredes delgadas y en el lado interno de cada valva hay una placenta. Cada placenta contiene numerosas semillas cubiertas por una membrana fina y blancuzca. Cada cápsula puede tener entre 20 a 55 semillas de acuerdo al tamaño de la cápsula (Reyes, 2015, p.14).

La semilla de annatto es de forma piramidal y tiene de 3 a 4 mm de largo, está unida a la placenta mediante un pedúnculo por la parte más puntiaguda, posee una hendidura en un solo lado que va desde la parte más puntiaguda hasta la mancha circular de color negro ubicada en la parte más gruesa. La semilla está formada por una membrana porosa debajo de la cual se empiezan a formar los colorantes bixina (pigmento rojo) y orillina (pigmento amarillo) esto se puede observar cuando la semilla está en formación, cuando la pepa ya ha madurado está cubierta por una capa delgada o arilo que contiene los colorantes. Siendo la bixina apocarotenoide su colorante principal, además posee nor-bixina y otras criptoxantinas menos importantes como luteína, zeaxantina y metilbixina. A temperaturas menores a 5°C se puede almacenar la semilla por 10 años y a temperatura ambiente en óptimas condiciones puede durar 12 meses (Centro Nacional de Tenología Agropecuaria y Forestal, 2015, p.16) (Shahid-ul-Islam *et al.*, 2016, p.501).

### **1.2.3 Requerimientos edafoclimáticos**

Para el cultivo del achiote se necesita que la temperatura este en un rango de 20 °C a 35 °C, una precipitación entre 600 y 2 000 milímetros de agua al año, sin embargo el achiote crece a una menor cantidad de lluvia y son condiciones aceptables lluvias intercaladas con una estación seca de 4 a 5 meses y una precipitación de 1 700 a 2 000 milímetros de agua anuales, se considera adecuada una humedad de 60% y 80% para que se dé un buen cultivo de esta planta, cuando la humedad es superior se propicia el desarrollo de hongos lo cual aumenta la presencia de insectos dañinos. Con respecto a la altitud el achiote presenta un amplio rango de adaptación que oscila entre 30 y 1 200 msnm siendo el más óptimo de 300 y 600 msnm, cuando sobrepasa los 800 msnm la producción de semilla disminuye. La planta tolera vientos fuertes ya que tiene un sistema radicular pero si la zona tiene vientos huracanados se ve perjudicada en las flores, hojas y ramas, la intensidad lumínica debe ser buena y estar distribuida uniformemente, los índices más elevados del sol se requieren en la etapa de floración y fructificación, la cantidad de luz necesaria es de 10 horas/día. El achiote se puede adaptar a diferentes tipos de suelo sin embargo se desarrolla mejor en suelos con un buen drenaje, profundidades mayores a 0,9 metros, textura franco arenosas, con

pendientes menores del 5% y pH de 5 a 7,5 pero se puede adaptar a pH entre 4,3 y 8,7 (Búcaro, 2018, p.13).

#### **1.2.4 Variedades de achiote**

Las características fenotípicas que se expresan al crecer las plantas permiten distinguir las variedades de achiote, algunas características que exhiben los distintos tipos de Bixa son plantas con flores blancas y cápsulas verdes, plantas con flores rosadas y cápsulas con diferentes tonos rojizos, plantas con capsulas rojas, amarillas, cafés, así mismo hay capsulas amarillas con pocas setas y capsulas sin setas, la forma de la cápsula puede ser redonda, acorazonada, oblonga, lancetada, con muchas, pocas y sin setas, otra característica es el color de pigmento que puede ser amarillo con semillas de color café y rojo con semillas de color anaranjado (Narciso, 2012, p.7).

#### **1.2.5 Usos del achiote**

##### **1.2.5.1 Usos tradicionales**

El uso más común y más extendido es como colorante natural para dar color a los alimentos, utilizándose la semilla de achiote, se logra extraer el colorante de las semillas con la aplicación de aceites o mantecas y el calor. Este uso es muy conocido especialmente en América del sur y América central, debido a que es la zona en que se concentra la producción de esta planta. También existen investigaciones de varios autores del uso de achiote para colorear la yema de los huevos al adicionar en la dieta de las gallinas de postura, así (Rojas *et al.*, 2015, p. 194) en su investigación encontraron que de los tratamientos aplicados con la adición de cantaxantina y extracto de achiote a 30 y 60 gramos mejoró los parámetros de rendimiento, coloración de la yema y la vida de anaquel del huevo.

Sin embargo existen otros usos tradicionales como es en la salud, la semilla de achiote molida se usa contra dolencias de los riñones, viruela, para bajar la fiebre, para problemas estomacales, sarampión, antidiarreico, antiinflamatorio, antidiabético, en caso de tumores bucales y estados gripales, las hojas tradicionalmente se usan para el dolor de cabeza, la retención de líquidos, las hemorroides, el dolor de garganta, la inflamación, el dolor de estómago y para bajar el azúcar de la sangre (Ecoagricultor, 2015).

EsSalud recomendó el consumo de achiote como desinflamante de la próstata debido a la presencia de esteroides en las hojas y por la presencia de flavonoides como un efectivo diurético, “Los beneficios terapéuticos, diuréticos y antibacteriales refuerzan la acción benéfica del achiote sobre la próstata y las vías genitourinarias”, explicó (Villacres, 2014), jefe del departamento de control de calidad del Instituto de medicina tradicional de EsSalud-Loreto, que también se le atribuye propiedades a la pulpa de semilla para combatir la hepatitis y otros problemas del hígado y a las hojas para tratar la conjuntivitis.

En el Ecuador para la nacionalidad Tsáchilas el achiote es un símbolo de salud, esto debido a la existencia de una leyenda que relata que en medio de la epidemia de viruela que diezmaba su población uno de los chamanes de la tribu pidió consejo a los espíritus y fue guiado hasta la planta de achiote y cubrió todo su cuerpo con el producto, a los pocos días cesaron las muertes por la epidemia, de ahí viene la creencia por su poder medicinal (León, 2015). Manuel Calazacón originario de los Tsáchilas explica para el diario La Hora los usos que su pueblo le da al achiote, así las hojas tiernas menciona que sirven para desinflamar y para dolores musculares, las semillas tienen propiedades cicatrizantes y desinflamante por lo que se aplican directamente sobre las heridas, las raíces de la planta hervida como té para tratar patologías crónicas como la diabetes e hipertensión (La Hora, 2019). Abraham Calazacón, dirigente Tsáchila manifiesta que la consideran planta sagrada, los hombres de su pueblo usan el achiote para pintar su cabello como símbolo de protección debido a que esto protegió a sus ancestros, las mujeres no lo usan en su cabello pero lo usan en infusión para sus dolores (Naula, 2018).

#### *1.2.5.2 Usos en la industria*

En la industria alimentaria el achiote se utiliza como colorante para los alimentos como el queso, la mantequilla, salsas, carnes, lácteos y los aceites debido a que las semillas son fuente de pigmentos mayormente de bixina y norbixina clasificados como carotenoides (CONtexto ganadero, 2017).

En la industria farmacéutica es utilizado para elaborar medicamentos para la afección de las amígdalas, y productos que ayudan a controlar los flujos anormales en la producción de óvulos de las mujeres, para la coloración de grageas, jarabes y para combatir la hipertensión y enfermedades de la próstata (Reyes, 2017). En odontología existen varios estudios para usarlo como revelador natural de la placa dental y para tratar afecciones de ciertas bacterias.

En la industria cosmética se usa para elabora labiales, filtros solares, repelentes contra insectos y otros productos faciales, también se usa en la industria textil como tinte natural para teñir telas y lanas, para abastecer a las diferentes industrias existen empresas dedicadas a la extracción de los productos de achiote según las necesidades, ya sea esta en pasta, en polvo, líquido o la norbixina y bixina como tal.



### 1.2.6 Composición química

En la tabla 4-1 se detalla los componentes que contienen las semillas de achiote y su respectivo porcentaje.

**Tabla 4-1:** Componentes de la semilla de achiote

Componente	Porcentaje (%)
Celulosa	40,00-45,00
Humedad	20,00-28,00
Pigmentos	4,00-5,50
Azúcares	3,50-5,20
Aceite esencial	0,25-0,85

**Fuente:** (Figuroa 1995) citado en (Sanchez, 2017)

La bixina es su principal componente representando el 80% del total de los pigmentos, se obtiene de la remoción del colorante de la semilla con solvente orgánico y posterior secado, su fórmula empírica es  $C_{25}H_{30}O_4$ , su nombre químico metil hidrogeno 9-Cis 6,6-diapocaroteno-diole, su punto de fusión es de 189,5°C- 190,5°C, es soluble en aceites y grasas, posee un matiz amarillo debido a la presencia de orellina (Salvo, 2016, p.20).

En todo el mundo se han realizado investigaciones sobre la farmacología del achiote por sus diversos usos etnomédicos, por lo que se ha descrito una amplia gama de actividades biológicas. La literatura atribuye al achiote actividades antibacterianas, antifúngicas, antioxidantes y de eliminación de radicales libres, la actividad antiinflamatoria, anticancerígena, así como la motilidad gastrointestinal mejorada y las actividades neurofarmacológicas y anticonvulsivas a través de la observación detallada con respecto a sus usos etnomédicos. Lo que ha permitido relacionar la propiedad medicinal con la sustancia del achiote responsable, como se muestra en la tabla 5-1 (Shahid-ul-Islam *et al.*, 2016, p.505).

**Tabla 5-1:** Actividad farmacológica de la *Bixa orellana* y su relación con su composición química

<b>Propiedad medicinal</b>	<b>Sustancias responsables</b>
Antibacteriana	Ácido ellágico, lignina, ácido salicílico
Antiinflamatoria	Ácido ellágico, glucósido de 7-luteolina-, ácido salicílico
Antiviral	Ácido ellágico, glucósido de 7-luteolina-
Inhibidor de la COX-2	Ácido salicílico
Inhibidora de la aldosa reductasa	Ácido ellágico, glucósido de 7-luteolina-, ácido salicílico
Antioxidante	Bixina, crocetina, cianidina, ácido ilógico, lignina, luteína, ácido salicílico
Antiperoxidante	Ácido ellágico

**Fuente:** (Lourido y Martínez, 2010)

A continuación en la tabla 6-1 se detalla la composición nutricional de la semilla achiote en 100g

**Tabla 6-1:** Composición nutricional de la semilla de achiote

Componente	mg/100g
Calcio	7,00
Hierro	1,40
Vitamina A	45,00
Riboflavina	0,20
Niacina	1,46
Tianina	0,39
Ácido ascórbico	12,50

**Fuente:** (Devia & Saldarriaga 2002) citado en (Sanchez, 2017)

### **1.2.7 Los carotenoides**

Los carotenoides son pigmentos orgánicos solubles en grasa que se encuentran de forma natural en algas, plantas y algunas clases de hongos y bacterias, son responsables de la gran mayoría de los colores verdes, anaranjados o rojos presentes en algunos vegetales y también animales por sus características fisicoquímicas. Se dividen en dos grupos: los carotenos y las xantofilas (López *et al.*, 2018, p.51).

#### **1.2.7.1 Los carotenos**

Contienen carbono e hidrogeno en sus moléculas y presentan una coloración rojiza anaranjada, se los puede encontrar en zanahorias, papayas, melones, naranjas, etc. y tenemos los siguientes:

Betacarotenos.- son un pigmento natural precursores de la vitamina A, una vez ingerido en el hígado y el intestino delgado se transforma en vitamina A y es un componente antioxidante (López *et al.*, 2018, p.52).

Alfacarotenos.- posee propiedades más destacadas como antioxidante que los betacarotenos y está presente en los mismos alimentos que el betacaroteno pero en menos proporción (López *et al.*, 2018, p.52).

Licopeno.- otorga una coloración roja o tomate a los alimentos que lo contienen y tiene propiedades anticancerígenas (López *et al.*, 2018, p.52).

Ciptoxantina.- con propiedades antioxidantes pero menores a las del betacaroteno, aparece en los mismos alimentos que este pero en menor proporción (López *et al.*, 2018, p.52).

#### **1.2.7.2 Las xantofilas.**

Están compuestas por carbono, hidrogeno y un átomo de oxígeno, estos presentan una coloración amarillenta, roja y anaranjada, se las puede encontrar en el pimiento rojo, el arándano, entre otros. Dentro de las xantofilas más importantes tenemos:

Luteína.- es un pigmento liposoluble de color amarillento presente en algas, bacterias y plantas superiores (López *et al.*, 2018, p.52).

Zeaxantina.- este es un pigmento con propiedades similares a las de la luteína (López *et al.*, 2018, p.52).

Capsantina.- este colorante se encuentra en los pimientos rojos junto a otros carotenoides como la capsorubina presenta propiedades antioxidantes (López *et al.*, 2018, p.52).

Astaxantina.- se caracteriza principalmente por su alto poder antioxidante, cuando está libre presenta un color rojo o anaranjado y pierde el color característico al estar unida a una proteína pero al separarla recupera su color propio (López *et al.*, 2018, p.52).

### **1.2.8 Carotenoides presentes en *Bixa orellana* (achiote)**

Los carotenoides que posee el achiote son dos colorantes naturales aislados de las semillas del árbol de (*Bixa orellana L.*). Este es conocido como annatto que es la denominación dada al extracto crudo. El colorante es una masa roja, que se unta al tacto, se disuelve poco a poco en agua, en alcohol y éter, dando una solución anaranjada (Rojas, 2016, p.8).

La bixina es el principio colorante, para obtener el color rojo bermejo se disuelve la carnosidad que envuelve las semillas en agua, esta posee una estructura amorfa y es fácilmente soluble en alcohol caliente (Rojas, 2016, p.8).

### **1.2.9 Relación de los carotenoides y la salud humana**

Los carotenoides están asociados con la salud humana porque están vinculados a la prevención de enfermedades, estudios clínicos sugieren que el consumo de alimentos ricos en carotenoides reduce la incidencia de varias enfermedades por su propiedad antioxidante. Los antioxidantes neutralizan diversas sustancias químicas que pueden dañar las membranas celulares y el material genético, lo cual puede derivar en varios tipos de cáncer, Alzheimer, Parkinson, diabetes, artritis reumatoide, neurodegeneraciones y enfermedades cardiovasculares, entre otras (López *et al.*, 2018, p.54).

Por su efecto en la salud humana los carotenoides más estudiados son el betacaroteno, el licopeno, la luteína, zeaxantina y la astaxantina, algunos de estos pigmentos no están disponibles de forma natural o crudo para su consumo, pero se libera y absorbe durante la preparación de los alimentos. El betacaroteno parece ser capaz de suprimir el crecimiento de ciertas lesiones precursoras de cáncer en el intestino, así como combatir la incidencia de cáncer de boca, esófago y de mama. La astaxantina es el pigmento con mayor propiedad antioxidante, mejora la respuesta del sistema inmunológico por que estimula la producción de glóbulos blancos y la actividad de los macrófagos (células que se encargan de disminuir las infecciones por microorganismos patógenos), también es un poderoso antiinflamatorio por lo que resulta muy benéfico en la mayoría de las patologías por niveles crónicos de inflamación (López *et al.*, 2018, p.54).

Estudios asocian la actividad antioxidante del licopeno y la protección ante la aparición y desarrollo de células malignas o cancerígenas en la próstata, por su parte la luteína y la zeaxantina actúan en la retina, pueden proteger al ojo contra daños causados por la luz ultravioleta, prevenir la degradación de lípidos y reducir la degradación macular relacionada con la edad o las cataratas

seniles. Se considera que el aporte dietético de carotenoides funciona como prevención primaria y secundaria de las numerosas enfermedades mencionadas anteriormente (López *et al.*, 2018, p.54).

### **1.2.10 Métodos de extracción del colorante de la semilla de achiote**

Los métodos de extracción del colorante como del extracto se conocían desde la antigüedad por lo que existen métodos rudimentarios, pero como todo ha ido evolucionando actualmente se conocen métodos industriales para su obtención (Huamán, 2018, p.34).

#### **1.2.10.1 Extracción rudimentaria**

Se separa las semillas de las cápsulas maduras, se las coloca en suficiente agua hirviendo con el fin de que el colorante se desprenda de estas, se deja fermentar por una semana, después se separa el residuo de las semillas de la suspensión acuosa. Finalmente se elimina el agua para dejar una pasta sólida que se moldea según la necesidad (Huamán, 2018, p.35).

Otro método consiste en machacar las semillas para obtener una masa a la cual se le agrega agua suficiente con agitación, cuando la solución acuosa se sedimenta se retira la mayor parte de agua clara y se deja hervir por dos horas o tres. Al retirarla del fuego se exprime para eliminar el resto de agua y obtener la pasta lista para empacar y comercializar (Huamán, 2018, p.35).

#### **1.2.10.2 Extracción industrial**

En el campo industrial la extracción se realiza con diferentes solventes como agua caliente, álcali diluido, aceites vegetales, acetato de etilo, entre otros. Para cada solvente se emplean varios métodos de extracción según la disponibilidad de equipos y recursos. A continuación se detallan los métodos (Huamán, 2018, p.35).

**Dilución del pigmento en agua.-** se da con la agitación mecánica de la semilla en un medio acuoso, consta de los siguientes pasos:

1. Extracción: se cocina la semilla alrededor de 5 horas con agitación mecánica.
2. Filtración: se la realiza para separar los residuos de la solución acuosa. Los residuos se lavan con agua para recuperar la mayor cantidad de colorante.
3. Concentración: mediante calentamiento se evapora el agua que contiene.
4. Mezclado: la pasta obtenida se mezcla con grasas vegetales o animales y otros aditivos para obtener una concentración de bixina adecuada a la necesidad (Huamán, 2018, p.36).

**Extracción por solventes volátiles.-** este método es el más tradicional, se ha variado los solventes por la poca afinidad de la bixina con el agua, así se consideran como solventes el agua, el aceite comestible, glicoles alcalinos o solventes volátiles como el hexano, etanol, acetona,

tricloroetileno, etc., estos tienen la finalidad de remover el colorante de la capa de las semillas de achiote y consta de los siguientes pasos:

1. Extracción: se pone en contacto la semilla con el solvente y se somete a agitación mecánica para liberar la mayor cantidad de colorante.
2. Filtración: se pasa el líquido por un tamiz para separar las semillas.
3. Concentración: se destila el solvente por calentamiento dejando solo el polvo del colorante seco (Huamán, 2018, p.37).

**Extracción mediante tratamiento alcalino.**- este método se realiza a temperaturas controladas e inferiores a la requerida para la degradación de la bixina (60 a 70°C), el proceso es el siguiente:

1. Extracción: se efectúa solubilizando la bixina en solución alcalina (hidróxido de sodio), a una temperatura de 41°C por 20 minutos.
2. Filtración: se separa los residuos de la solución coloreada.
3. Precipitación: la bixina en solución se insolubiliza precipitándola mediante la adición de solución ácida de concentración 20% v/v.
4. Filtración y lavado: la bixina sólida se separa por filtración y se lava para eliminar todos los residuos de ácido que pudieran estar presentes.
5. Secado: finalmente se seca a temperatura de 60°C hasta alcanzar un contenido de humedad del 5 % (Huamán, 2018, p.38).

### ***1.2.11 Métodos de evaluación de la actividad antioxidante***

#### **Método del ácido tiobarbitúrico**

“La prueba de ácido tiobarbitúrico (TBA) se basa en la suposición de que el malonaldehído es uno de los productos que se forma de la oxidación de los lípidos, mismo que reacciona con el ácido tiobarbitúrico formando una red cromófora, siendo la intensidad de esta proporcional al grado de oxidación de los aceites y grasas” (Fores Jimenez, 2011). La literatura establece tres técnicas generales para la aplicación de este método que son: la técnica de destilación habitualmente para alimentos de origen animal, la de calentamiento simple a reflujo sin etapa de separación previa, la técnica de extracción simple para aceites y modificada con extracción en la fase sólida para carnes, sin embargo la técnica aplicada no es el único factor para que varíen los resultados de absorbancia sino también las formas de procesar el alimento, preparación de la muestra y en la industria cárnica el tipo de carne usada o evaluada (Vicario Romero *et al.*, 1997).

### **Método del CARO (capacidad de absorbanza de radicales de oxígeno) conocido en inglés como ORAC**

Este método requiere de instrumentación menos avanzada, tiene mayor relevancia biológica, está basado en el mecanismo de transferencia de átomos de hidrogeno (TAH), se realiza la cuantificación por el área bajo la curva (ABC) (Londoño, 2012, p.144). El método refleja un mecanismo clásico de la actividad mediada por antioxidantes terminadores de cadena mediante TAH, los radicales alquilo que generan radicales peroxilo en presencia de oxígeno reaccionan con una sonda coloreada o fluorescente para formar un producto incoloro (Reguillo, 2018, p.14).

### **Método PATAR (parámetro antioxidante total de atrapamiento de radicales) conocido en inglés como TRAP**

Este ensayo se realiza con instrumentación más avanzada, tiene mayor relevancia biológica, está basado en el mecanismo de transferencia de átomos de hidrogeno (TAH) y se cuantifica por concentración efectiva 50 (CE<sub>50</sub>) en la fase de inducción (Londoño, 2012, p.144). Con este se mide la inhibición de la oxidación inducida por radicales de peroxilo que son generados mediante la descomposición térmica de un compuesto hidrosoluble (Reguillo, 2018, p.15).

### **Método CRHF (capacidad para reducir el hierro férrico) conocido en inglés como FRAP**

Este método está basado en el principio de que los antioxidantes son capaces de reducir el ion férrico al estado ferroso, por tanto no evalúa la capacidad neutralizadora de radicales si no la capacidad reductora por transferencia de electrones (Reguillo, 2018, p.16) requiere de instrumentación menos avanzada, es de baja relevancia biológica, el mecanismo es por transferencias de electrones (TE) y se cuantifica por absorbancia (Londoño, 2012, p.144).

### **Método DPPH (Difenil Picril Hidrazilo)**

Este es el método que requiere la instrumentación menos avanzada, y es el de menor relevancia biológica, la reacción de la estabilización transcurre principalmente mediante el mecanismo de transferencia de átomos de hidrógeno (TAH) y la transferencia de electrones (TE) y se cuantifica por la absorbancia y por concentración efectiva 50 (CE<sub>50</sub>) (Londoño, 2012, p.144). Este ensayo mide la capacidad de un antioxidante para estabilizar el radical DPPH, mismo que es uno de los pocos radicales orgánicos estable (Reguillo, 2018, p.17).

## Método de peroxidación lipídica LDL

Este método requiere de instrumentación moderadamente avanzada, y es de alta relevancia biológica, está basado en el mecanismo de transferencia de átomos de hidrógeno y se cuantifica en el tiempo de inducción, dienos conjugados y en sustancias reactivas con ácido (Londoño, 2012, p.144).

### 1.2.12 Acción antioxidante in vitro del achiote

El efecto antioxidante se demostró en un estudio realizado por (Júnior *et al.* 2005), desde entonces se ha desencadenado un sin número de estudios para determinar la propiedad antioxidante del achiote. Así tomaremos lo que menciona Lourido con respecto a la investigación realizada por Júnior: “Se evaluó el efecto de la norbixina en respuesta al daño del ADN inducido por radiación UV, peróxido de hidrogeno ( $H_2O_2$ ) y anión superóxido ( $O_2^-$ ) sobre células de *Escherichia coli*, y se determinó que la norbixina era capaz de proteger a la célula ante estos agentes. La norbixina aumento la supervivencia de la célula en al menos diez veces” (Lourido y Martinez, 2010, p. 236).

Los estudios demuestran que la actividad antioxidante del annatto depende del método de evaluación y de la cantidad de fenoles totales obtenida y esta a su vez depende de las condiciones de extracción y de almacenamiento, de este modo (Muñoz, 2015, p.26) en la investigación para evaluar la actividad antioxidante del extracto de hojas de achiote a diferentes concentraciones, encontró que la solución con mayor concentración de flavonoides totales de 30,960  $\mu\text{g/ml}$  tiene el valor máximo del porcentaje de captura de DPPH a los 45 minutos, que fue de 59,37%, mismo que corresponde a 22,50  $\mu\text{g/ml}$  de concentración de DPPH (captura del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), estos valores se pueden apreciar con mayor detalle en la tabla 7-1. Así mismo (Sepúlveda *et al.*, 2016, p.135) mencionan que de los procesos que llevaron a cabo, el proceso con las condiciones que más favorece la extracción de los compuestos fenólicos de las hojas de *Bixa orellana L.* son: tiempo de extracción de 60 horas y la relación solvente/hojas (v/p) de 4/1. Obteniendo un contenido máximo de fenoles de  $144,77 \pm 9,66 \text{ mg}_{\text{AT}}/\text{g}$  (miligramos de equivalentes del ácido tánico por gramo de extracto) que al ser sometido a una solución de pH 8 y 11,7°brix, presenta una actividad antioxidante de  $4406,83 \pm 43,30 \mu\text{mol}_{\text{ET}}/\text{g}$  (micromoles de equivalentes trolox por gramo de extracto) por el método de reacción con el radical 2,2'-azino-bis (3-etilbenotiazolin-6-ácido sulfónico) y  $4547,22 \pm 53,19 \mu\text{mol}_{\text{ET}}/\text{g}$  por el método de la media de la capacidad reductora sobre el  $\text{Fe}^{+3}$ .



**Tabla 7-1:** Concentración del radical DPPH\* capturado por la solución etanólico del flavonoides totales de las hojas de achiote

Muestra	Concentración de la solución etanólica de flavonoides totales (µg/mL)	Concentración DPPH* capturado (µg/mL) Minuto 1	Concentración DPPH* capturado (µg/mL) Minuto 15	Concentración DPPH* capturado (µg/mL) Minuto 30	Concentración DPPH* capturado (µg/mL) Minuto 45
1	3.096	2.51	3.35	3.40	4.65
2	6.192	4.69	6.81	7.21	7.66
3	9.288	5.96	8.10	9.33	10.65
4	12.384	7.91	10.75	11.67	12.26
5	15.480	10.13	13.04	13.99	14.87
6	18.576	12.09	13.55	15.52	16.75
7	21.672	13.62	16.64	18.24	19.72
8	24.768	15.01	17.62	19.05	19.94
9	27.864	16.24	18.33	20.37	21.48
10	30.960	18.30	21.15	21.99	22.50

Fuente: (Muñoz, 2015)

Otra investigación donde se evaluó la actividad antioxidante del extracto de semilla de *Bixa orellana* obtenidos con el método FSC-CO<sub>2</sub> variando la presión y la temperatura, se halló que el extracto con mayor actividad antioxidante fue el que se obtuvo a una presión de 5076 psi y a 45°C, con un IC<sub>50</sub> de 23,55 µg/ml (Meñaca *et al.*, 2018, p.87). Por otra parte en el estudio *in vitro* realizado por (Yarin, 2019, p.45) con distintas concentraciones de extracto hidroalcohólico de semilla de achiote por el método de DPPH observó que a medida que aumenta la concentración del extracto también aumenta el porcentaje de inhibición del radical libre, en la tabla 8-1 se puede apreciar las diferencias del porcentaje de inhibición y la concentración del extracto, así con una

concentración de 800 µg/ml el promedio de absorbancia a 517 nm es de 0,405 y el porcentaje de inhibición de 28,32 % y a una concentración de 12000 µg/ml el promedio de absorbancia es 0.041 y el porcentaje de inhibición es de 92,74 %. También (Sepúlveda *et al.*, 2019, p.60) evaluaron la actividad antioxidante de los fenoles totales del extracto etanólico de semillas de *Bixa orellana* durante 91 días a diferentes temperaturas de almacenamiento donde los resultados (tabla 9-1) mostraron que la actividad antioxidante (ABTS Y FRAP), se ve afectada por la temperatura de almacenamiento, y sufre un decrecimiento en función del tiempo y la temperatura con el mismo patrón de degradación térmica que de los compuestos fenólicos, por lo que el autor atribuye la actividad antioxidante principalmente a los compuestos fenólicos presentes.

**Tabla 8-1:** Actividad antioxidante del extracto de achiote por el método DPPH

Concentración Extracto (µg/mL)	Promedio Absorbancia a 517 nm	Desviación estándar	% inhibición
0	0.565	0.003	0
800	0.405	0.050	28.32
1600	0.362	0.010	35.93
3200	0.311	0.012	44.96
6000	0.265	0.007	53.10
12000	0.041	0.003	92.74
		IC50	5.621

Fuente: (Yarin, 2019)

**Tabla 9-1:** Degradación de los compuestos fenólicos y actividad antioxidante del extracto de la semilla de achiote.

Temperatura (°C)	FT		ABTS		FRAP	
	K (Días <sup>1</sup> )	T <sup>1/2</sup> (Días)	K (Días <sup>1</sup> )	T <sup>1/2</sup> (Días)	K (Días <sup>1</sup> )	T <sup>1/2</sup> (Días)
-20	0.018(0.97)	38	0.019(0.84)	37	0.019(0.67)	36
8	0.019(0.97)	37	0.022(0.89)	32	0.020(0.77)	34
23	0.028(0.96)	28	0.024(0.92)	28	0.027(0.94)	26
37	0.025(0.88)	28	0.025(0.93)	28	0.031(0.91)	22
Ea(KJ.mol <sup>-1</sup> )	4.1(0.47)		3.2(0.97)		5.5(0.80)	
Q <sub>10</sub> (8/-20)	1.0		1.1		1.0	
Q <sub>10</sub> (23/8)	1.2		1.1		1.2	
Q <sub>10</sub> (37/23)	1.0		1.0		1.1	

Fuente: (Sepúlveda *et al.*, 2019)

### 1.2.13 Acción antioxidante del achiote en productos cárnicos

Conociendo que los compuestos polifenólicos (CPF) tienen efecto sobre la prevención de la peroxidación lipídica de los alimentos cárnicos, se analizó la actividad antioxidante (AA) de los CPF y su efecto protector frente a la peroxidación lipídica en la carne de cerdo con chile y el achiote comercial (Ach LT), con una extracción secuencial con metanol y acetona ambos al 80%, el efecto protector frente a la peroxidación lipídica se midió por el método del ácido tiobarbitúrico (TBARS) cada tercer día por 16 días, donde el chile presentó la mayor AA por los métodos DPPH y ABTS, en cambio el Ach LT presentó mayor AA por el método FRAP (poder antioxidante reductor de iones férricos o capacidad antioxidante para reducir el ion férrico). Los valores TRABS del día 16 mostraron que los extractos tienen un efecto protector sobre la peroxidación de la carne de cerdo (Mercado *et al.*, 2014, p.35).

Los valores de peróxido (POV) y prueba de ácido tiobarbitúrico (TBA) son los productos primarios y secundarios de la oxidación de lípidos, por eso estos son dos indicadores importantes para evaluar el nivel de oxidación de los lípidos y de los productos con alto contenido, así en la tabla 10-1, se aprecian los resultados de la investigación realizada por (Tran *et al.*, 2016, p.183) en salchichas de cerdo (formulación ver anexo B) que reportaron valores de POV de 2,44 meq/kg

en la muestra control sin nitrito, 0,95; 0,92; 0,88 y 0,86 meq/kg y valores de TAB de 0.18 mgMDA/kg para la prueba control y 0.09, 0.10, 0.11 y 0.10 mgMDA/kg para las muestras con adición de polvo de la semilla de achiote con 0.025%, 0.05%, 0.1% y 0.2% respectivamente. Observándose valores menores en las muestras con adición de annatto lo que indica que el polvo de la semilla de achiote tiene actividad antioxidante y ayuda a prevenir las reacciones primarias y secundarias de los lípidos en las muestras de salchichas de cerdo.

**Tabla 10-1:** Efectos del polvo de la semilla de achiote sobre las propiedades fisicoquímicas de salchichas de cerdo

Parámetros	Tratamientos					
	CTL	REF	T1	T2	T3	T4
TBA	0.18 <sup>a</sup>	0.06 <sup>c</sup>	0.09 <sup>bc</sup>	0.10 <sup>b</sup>	0.11 <sup>b</sup>	0.10 <sup>b</sup>
Peroxidación (POV)	2.44 <sup>a</sup>	1.32 <sup>b</sup>	0.95 <sup>c</sup>	0.92 <sup>c</sup>	0.88 <sup>c</sup>	0.86 <sup>c</sup>
VBN	5.78 <sup>a</sup>	4.92 <sup>b</sup>	5.25 <sup>ab</sup>	5.26 <sup>ab</sup>	5.28 <sup>ab</sup>	5.37 <sup>ab</sup>
TPC	3.58 <sup>a</sup>	2.58 <sup>b</sup>	2.68 <sup>b</sup>	2.58 <sup>b</sup>	2.53 <sup>b</sup>	2.37 <sup>b</sup>
VRB	3.34 <sup>a</sup>	2.30 <sup>b</sup>	2.46 <sup>b</sup>	2.35 <sup>b</sup>	2.35 <sup>b</sup>	2.40 <sup>b</sup>

Las medidas con diferentes letras en superíndice (<sup>af</sup>) en la misma columna indican diferencias significativas en  $p < 0.05$ .

**Fuente:** (Tran *et al.*, 2016)

(Van Cong *et al.*, 2016) consideran que la adicción de polvo de semilla de achiote (0,25 a 0,50%) podría ser una buena manera de prevenir la oxidación de lípidos en productos cárnicos, sus resultados se detallan en la tabla 11-1, de acuerdo a los valores obtenidos en la pendiente inferior de TBARS 0,95, 0,30 y 0,20 para las concentraciones de 0,1, 0,25 y 0,5% respectivamente, en cuanto a los valores POV las empanadas de cerdo (Formulación ver anexo C) que contenían 0,5% de polvo de semilla de achiote mostraron los valores más bajos durante el almacenamiento, sin embargo no lo considera para la valoración de oxidación de lípidos por la baja estabilidad de los peróxidos.

**Tabla 11-1:** Propiedades de las empanadas de cerdo con polvo de semilla de achiote.

Tratamientos (TRT)		Parámetros				
Días de almacenamiento	TRT	TBARS	POV	VBN	TPC	VRB
		CTL	1.53	7.27	9.3 <sup>ab</sup>	4.30
TRT	AA0.1	0.22 <sup>c</sup>	1.69 <sup>c</sup>	9.6 <sup>a</sup>	4.42	4.09
	ANT0.1	0.95 <sup>b</sup>	3.44 <sup>b</sup>	8.4 <sup>a</sup>	4.16	3.83 <sup>abc</sup>
	ANT0.25	0.30 <sup>c</sup>	1.51 <sup>c</sup>	8.3 <sup>a</sup>	4.37	3.57 <sup>c</sup>
	ANT0.5	0.20 <sup>c</sup>	0.31	9.3 <sup>ab</sup>	4.16	3.66 <sup>a</sup>
	1	0.29	2.07 <sup>b</sup>	6.9 <sup>c</sup>	2.64	2.23
Días de almacenamiento	3	0.47 <sup>c</sup>	2.18 <sup>b</sup>	7.0 <sup>c</sup>	3.03	2.42
	7	0.57 <sup>a</sup>	2.46 <sup>b</sup>	7.3 <sup>c</sup>	4.10 <sup>c</sup>	3.60 <sup>c</sup>
	10	0.69 <sup>ab</sup>	3.08	9.5 <sup>b</sup>	4.82 <sup>b</sup>	4.24 <sup>b</sup>
	14	0.78	3.07	13.0 <sup>a</sup>	6.77 <sup>a</sup>	6.50 <sup>a</sup>

Las medidas con diferentes letras en superíndice (<sup>af</sup>) en la misma columna indican diferencias significativas en  $p < 0.05$ . NS= no significativo

<sup>1)</sup> Parámetros: TBARS = Sustancia reactiva al ácido tiobarbitúrico, POV = Valores de peróxidos,

VBN= Nitrógeno básico volátil total, TPC: recuento total en placa, VRB: bilis rojo violeta. <sup>2)</sup>

Tratamiento: CTL=hamburguesas sin adicción, AA0.1=ácido ascórbico al 0.1%; ANT0.1, 0.25, 0.5=0.1%, 0.25% y 0.5% de polvo de semilla de achiote, respectivamente.

Fuente: (Van Cong *et al.*, 2016)

## **1.2.14 Métodos de evaluación de la actividad antimicrobiana**

### **1.2.14.1 Métodos de dilución**

#### **Dilución por discos**

Consiste en la aplicación de una determinada cantidad de antimicrobiano en la superficie del agar, sobre el cual se ha distribuido un inóculo de microorganismos en estudio, por difusión se formará un gradiente de concentración del producto alrededor del disco, el tamaño de la zona de inhibición indica la sensibilidad del microorganismo, el diámetro también dependerá de la carga del disco, el espesor de la capa de agar, el pH y la composición del medio de cultivo. Los resultados se expresan en concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) (Sánchez-García *et al.*, 2016, p.25).

#### **Dilución en agar**

Este método consiste en la incorporación del producto antimicrobiano a evaluar en un medio con agar, el producto se añade cuando el agar aun esta líquido y se inocula con un replicador en el medio de cultivo solidificado. Para lograr el rango de dilución deseado se prepara una serie de placas con una determinada concentración de producto cada una. Los resultados se expresan en CMI que se define como la menor concentración capaz de inhibir el crecimiento microbiano es decir no hay crecimiento visible (Sánchez-García *et al.*, 2016, p.84).

#### **Dilución en caldo**

Este método se procede de la misma manera que en la dilución en agar, pero para la interpretación de los resultados se realiza por turbidimetría e indicadores REDOX, que se utilizan para determinación del crecimiento/viabilidad microbiana. Las desventajas de la turbidimetría se presentan en compuestos no solubles que pueden interferir en la lectura, por ello se debe utilizar un control de crecimiento y un blanco que contenga medio de cultivo y el compuesto sin adición de microorganismo (Sánchez-García *et al.*, 2016, p.84).

### **1.2.14.2 Métodos de difusión**

#### **Difusión en disco**

Para este método se inocula y siembra en la superficie de los agares y se impregna en discos de papel filtro los extractos a evaluar, los blancos y los estándar para posteriormente ser colocados en la superficie de la placa de agar inoculado y finalmente se encubran. Se mide los halos de inhibición incluyendo el diámetro de los discos (Sánchez-García *et al.*, 2016, p.82).

## **Difusión en agar**

Para este método se realiza la siembra en el agar con un hisopo previamente sumergido en el inóculo, la siembra se realiza de forma paralela abarcando toda la superficie del agar, después se coloca el papel filtro previamente impregnados con las concentraciones conocidas del producto a evaluar. Sirve para medir la sensibilidad de un microorganismo y los resultados se expresan como sigue: sensible (S), intermedio o moderadamente sensible (I) y resistente (R) (Montero-Reclade *et al.*, 2018, p.145).

### *1.2.14.3 Método bioautografía*

Es una variante del método de difusión en agar, en este el extracto crudo del que se evalúan las propiedades antimicrobianas se coloca sobre la placa de cromatografía en capa fina, posteriormente es eluido con una mezcla apropiada de solventes, permitiendo la separación de los componentes del extracto. Esta técnica simplifica el proceso de aislamiento e identificación de compuestos antimicrobianos a partir de extractos crudos. Se dividen en tres categorías bioautografía por contacto, bioautografía directa y bioautografía por inmersión o por superposición de agar (Sánchez-García *et al.*, 2016, p.87).

### *1.2.15 Acción antimicrobiana in vitro del achiote*

En estudios realizados por Galindo, 2003 y Zarringhalami, 2009 y citados por (Ferrufino Peña, 2017, p.2) se ha demostrado que el extracto de achiote a partir de concentraciones de 0.08 a 0.16% es utilizado como agente antimicrobiano para la inhibición de patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* y *Clostridium perfringens*. Otro estudio *in vitro* demuestra la actividad antimicrobiana del extracto de etanol de la semilla de *Bixa orellana* frente a *Staphylococcus aureus*, además presenta las concentraciones mínimas de inhibición (MIC) más bajas contra *E. coli* de 0,8 µg/ml comparado con sulfato de gentamicina que fue de 0,98 g/ml y contra *Bacillus cereus* de 0,2 µg/ml que fue menor a la del sulfato de gentamicina de 0,5 µg/ml (Rojas *et al.*, 2006).

También el estudio realizado por (Naranjo *et al.*, 2017) reveló la actividad antimicrobiana de los compuestos bioactivos de las semillas de *B. Orellana*, la actividad antimicrobiana se evaluó mediante el método colorimétrico de microdilución en caldo, donde las concentraciones mínimas inhibitorias del extracto optimizado fueron 2 048 µg/mg contra *listeria monocytogenes*, 1 024 µg/mg frente a *Escherichia coli*, 64 µg/mg contra *Staphylococcus aureus* y 8 µg/mg contra *Bacillus cereus*. Asimismo se demostró la actividad antimicrobiana contra *Mycobacterium abscessus subsp. Masiliense* (Mabs) de un extracto hidroalcohólico (BoHE) y una fracción de acetato de etilo (BoEA) de las hojas de *Bixa orellana*, se determinó (MIC) y la concentración mínima bactericida (MBC) mediante microdilución en caldo, la MBC es la concentración más

baja que evitó el crecimiento bacteriano, para el (BoHE) la MIC fue de 2,34 mg/ml y la MBC de 37,5 mg/ml, mientras que para la BoEA la MIC fue de 0,39 mg/ml y la MBC de 6,25 mg/ml. Por tanto el extracto de *B. orellana* puede ser efectivo para tratar infecciones causadas por Mabs. (Lima, *et al.*, 2018). En el estudio realizado por (Collantes Vargas, 2019, p. 29) se comparó la efectividad antimicrobiana del extracto hidroetanólico de las hojas de *Bixa orellana L.* (Achiote) a concentraciones de 25%, 50% y 75% frente a cepas de *Streptococcus mutans*, reveló halos de inhibición de 19.43 mm, 23.35 mm y 26.38 mm respectivamente, teniendo mayor halo de inhibición la concentración al 75% esta concentración también tuvo una acción antimicrobiana significativamente mayor que el etanol al 70% e igual acción antimicrobiana con Digluconato de clorhexidina 0.12%. En la tabla 12-1 se aprecia de forma clara los valores antes descritos.

**Tabla 12-1:** Acción antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de las hojas de achiote sobre *Streptococcus mutans*

Concentración	N	Halo x mm	Desviación típica	Intervalo de confianza para la media al 95%		P*
				Límite inferior	Límite superior	
25%	10	19.43	0.94	18.76	20.10	0.000
50%	10	23.35	0.78	22.79	23.91	
75%	10	26.38	0.69	25.89	26.87	
Clorhexidina 0.12%	10	26.04	0.30	25.83	26.25	
Etanol 70°	10	9.20	0.42	8.90	9.20	

Nivel de significancia estadística (p<0.05)

Fuente: (Collantes Vargas, 2019)



### ***1.2.16 Acción antimicrobiana en productos cárnicos***

Zarringhalami realizó un remplazo parcial de nitrito por polvo de annatto con 1% de norbixina en salchichas, se encontró que la mejor combinación en cuanto a color es de 40% de nitrito y 60% de annatto, por tanto solo se evaluó la actividad antimicrobiana de la mejor muestra comparándola con la control (120 ppm de nitrito) en salchichas inoculadas con *C. perfringers*, donde no se encontraron diferencias significativas en cuanto a la contaminación microbiana ni en las propiedades sensoriales (Zarringhalami *et al.*, 2009).

Mientras que en las salchichas hot dog formuladas (ver anexo A) con 0,012% de nitrito (CTL), 0,025 con annatto (RA) y con 0,05 de carmín (RC) no se hallaron diferencia en el recuento bacteriano total obteniéndose <3 log UFC/kg y tampoco se encontraron diferencias en el recuento de *Enterobacteriaceae* que fue <1 log UFC/kg. Esta determinación se dio en menos de las 24 h después de haber preparado la muestra y no durante el almacenamiento en frío (Ruiz *et al.*, 2014). Así mismo (Sánchez *et al.*, 2014) examinaron la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de annatto combinado con coproductos de la palmera datilera en pate de hígado de cerdo durante 21 días de almacenamiento, la combinación que reduce los recuentos microbianos es la de 7,5% de pasta de palmera y 128 mg/kg de annatto encontrándose 1,99 Log UFC/g, mientras que en la otra combinación de 2,5% de pasta de palmera y 128 mg/kg se contó 2,18 Log UFC/g.

Por otro lado los resultados sobre el estudio de empanadas de cerdo tratadas con achiote y ácido ascórbico donde se aprecia que no se halló diferencias en los recuentos microbianos totales entre las empanadas tratadas, pero la adición de polvo de semillas de achiote (ANT) a las empanadas de cerdo, redujo el recuento microbiano de *Enterobacteriaceae*, en comparación al control (0 ácido ascórbico, 0% ANT) o referencia (0,1% ácido ascórbico) cuando la cantidad de ANT fue superior al 0,25%, por lo que el polvo de semilla de achiote tiene potencial de actividad antimicrobiana en las empanadas de cerdo (Van Cong *et al.*, 2016).

El efecto antimicrobiano también lo demostró el estudio realizado sobre salchichas de cerdo donde se realizó el recuento de unidades formadoras de colonias de cinco muestras, usando como prueba control el tratamiento con 0% de nitrito y de annatto y las otras muestras contenían 0.25%, 0.05%, 0.1% y 0.2% de polvo de semilla de achiote, el recuento se realizó en dos tipos de agares en vilis roja violeta (VRB) para *Enterobacteriaceae* hallando 3.34 Log UFC/g, 2.46 Log UFC/g, 2.35 Log UFC/g, 2.35 Log UFC/g y 2.4 Log UFC/g respectivamente para cada tratamiento y total plane count color indicator (TPC) para recuento de microorganismos aeróbicos mesófilos donde se encontró 3.58 Log UFC/g, 2.68 Log UFC/g, 2.58 Log UFC/g, 2.53 Log UFC/g y 2.37 Log UFC/g respectivamente (Tran *et al.*, 2016, p.183).

En el 2017 Ferrufino evaluó la actividad antimicrobiana de *Bixa orellana*, realizando sustitución de nitrito por achiote en salchichas Frankfurt (formulación ver anexo E), el recuento de coliformes totales en todos los tratamientos fue <1 Log UFC/g, mientras que para bacterias Mesófilas aerobias se encontró en el tratamiento control sin achiote y sin nitrito 3,15 Log UFC/g, en el tratamiento con 150 ppm de nitrito y 0% Bixa 2,67 Log UFC/g, en el tratamiento con 75 ppm de nitrito y 0.5% de Bixa 3.09 Log UFC/g y finalmente en el tratamiento 0 de nitrito y 1% de Bixa 3.07 Log UFC/g, sin embargo no presentaron diferencias significativas entre tratamientos tanto en el análisis proximal como en el microbiológico, por lo que el autor concluye que *Bixa orellana* puede utilizarse como agente antimicrobiano (Ferrufino Peña, 2017, p.12), en la tabla 13-1 se puede apreciar los resultados completos reportados por el autor. Así mismo se encontró un estudio sobre el efecto antimicrobiano del achiote en chorizo y en longaniza (formulaciones ver anexo F), sus resultados se pueden observar en las tablas 14-1 y 15-1, donde se divisa que ha aplicado 5g de achiote por cada libra de carne usada en el chorizo y 2.5 g de achiote por cada libra de carne para longaniza, en el recuento microbiano total y de *Escherichia coli* no se encontraron diferencias entre los tratamientos, siendo para Coliformes totales en todos <5 Log UFC/g, de la misma manera en todos los tratamientos reporto ausencia de *E. coli* (Ponce, 2018, p.83). Además el análisis microbiológico está dentro de los valores permitidos por el reglamento técnico centroamericano (ver anexo G).

**Tabla 13-1:** Resultados microbiológicos de salchicha Frankfurt con diferentes concentraciones de nitrito de sodio y *Bixa orellana*

TRT	Media ± D.E. BMA (Log UFC/g)	Coliformes totales (Log UFC/g)
Control	3.15 ± 0.48 <sup>a</sup>	<1
N150/B0	2.67 ± 0.32 <sup>a</sup>	<1
N75/B0.5	3.09 ± 0.36 <sup>a</sup>	<1
N0/B1	3.07 ± 0.81 <sup>a</sup>	<1
CV (%)	16.31	

TRT: Tratamiento, Control: salchicha Frankfurt sin adicción de nitrito de sodio y *Bixa orellana*; N150/B0: salchicha Frankfurt con 150 ppm de nitrito de sodio y 0% de *Bixa orellana*; N75/B0.5: salchicha Frankfurt con 75 ppm de nitrito de sodio y 0.5% de *Bixa orellana*; N0/B1: salchicha Frankfurt con 0 ppm de nitrito de sodio y 1% de *Bixa orellana*.

BMA: Bacterias mesófilas aerobias. UFC/g: Unidades formadoras de colonia por gramo.

D.E.: Desviación estándar. <sup>a</sup> No existe diferencia significativa entre tratamientos (P>0.05).

Fuente: (Ferrufino Peña, 2017)

**Tabla 14-1:** Resultados microbiológicos del chorizo elaborado aplicando el colorante natural achiote

Tipo de muestra	Cantidad de muestra de colorante analizada (g)	Recuento de coliformes reales (UFC/g de muestra)	Recuento de coliformes totales según RTCA (UFC/g de muestra)	<i>Escherichia coli</i>
t1-pH1- R2	50	<5	<5 ausencia de coliformes	Ausente
t1-pH2- R2	50	<5	totales y <i>Escherichia coli</i>	Ausente
t1-pH3- R1	50	<5	>5 presencia de coliformes totales y	Ausente
t2-pH1- R1	50	<5	<i>Escherichia coli</i>	Ausente
t2-pH2- R2	50	<5	** coliformes totales	Ausente
t2-pH3- R1	50	<5	sobre 0.1 g de muestra y	Ausente
t3-pH1- R1	50	<5	E-coli sobre 1 g de muestra	Ausente
t3-pH3- R3	50	<5		Ausente

RTCA= Reglamento técnico centro americano

Fuente: (Ponce, 2018)

**Tabla 15-1:** Resultados microbiológicos de las longanizas elaboradas aplicando el colorante natural achiote

Tipo de muestra	Cantidad de muestra de colorante analizada (g)	Recuento de coliformes totales real (FC/g de muestra)	Recuento de coliformes totales según RTCA (UFC/g de muestra)	<i>Escherichia coli</i>
t1-pH1-R2	50	<5	<5 ausencia de coliformes totales y <i>Escherichia coli</i>	Ausente
t1-pH2-R3	50	<5		Ausente
t1-pH3-R3	50	<5	>5 presencia de coliformes totales y <i>Escherichia coli</i>	Ausente
t2-pH1-R3	50	<5		Ausente
t2-pH2-R2	50	<5	**Coliformes totales sobre 0.1 g de muestra y <i>E. coli</i> sobre 1 g de muestra	Ausente
t2-pH3-R3	50	<5		Ausente
t3-pH1-R3	50	<5		Ausente
t3-pH2-R3	50	<5		Ausente

RTCA: Reglamento técnico centroamericano

Fuente: (Ponce, 2018)

## **CAPITULO II**

### **2. MARCO METODOLÓGICO**

#### **2.1 Búsqueda de la bibliografía**

1. Se la realizó por motores de búsqueda debido a que estos realizan el sondeo de la información por contenido.
2. Por meta buscadores mediante el uso de palabras claves debido a que estos arrojan resultados de artículos que contengan el criterio de búsqueda.

#### **2.2 Criterios de selección**

Para la selección se admitió información actualizada, no menos de cinco años atrás, sin embargo hay que tomar en cuenta que existe información de calidad publicada con mayor antigüedad, se tomó en cuenta aquellos artículos que representan el génesis de la presente investigación.

Otro criterio de selección fue la plataforma en la que está publicado el artículo o investigación, tomando en cuenta solo aquellos que se encuentren en plataformas confiables como google académico, revistas científicas como Scielo, PUBMEB, science Direct, etc. y repositorios digitales de las universidades.

#### **2.3 Métodos para sistematización de la información**

A lo largo del tiempo se han realizado varias investigaciones que proporcionan diferentes resultados con respecto a la actividad antioxidante y antimicrobiana del achiote, por ello para organizar la amplia gama de información encontrada, se realizó tablas resumen de las investigaciones existentes y se ordenó la investigaciones en una línea de tiempo, para realizar la respectiva citación en la presente investigación en miras de cumplir con los objetivos planteados.

## CAPITULO III

### 3. MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

#### 3.1 Acción antioxidante *in vitro* del achiote

Las investigaciones para evaluar la acción antioxidante *in vitro* del achiote son diversas y todas demuestran esta propiedad de Bixa, por lo tanto en la tabla 16-3 se resumen los resultados de las investigaciones *in vitro* de la actividad antioxidante del achiote:

**Tabla 16-3:** Resumen de la actividad antioxidante *in vitro* del achiote según varios autores

Compuestos	Metodología	Sobre	Concentración	Actividad antioxidante	Autor
Norbixina	En respuesta al daño inducido por radiación UV	Células de <i>Escherichia coli</i>	-----	Aumento la supervivencia en al menos 10 veces	Lourido, H. y Martínez, G., 2010
	Peróxido de hidrogeno (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )				
	Anión peróxido (O <sub>2</sub> )				
Compuestos fenólicos de las hojas	DPPH	<i>in vitro</i>	144,77 mg <sub>AT</sub> /g	4406,83 μmol <sub>FT</sub> /g	Sepúlveda & <i>et al.</i> , 2016
	capacidad reductora Fe			4547,22 μmol <sub>FT</sub> /g	
Extracto de semilla	FSC-CO <sub>2</sub> variando la presión y temperatura	<i>in vitro</i>	-----	IC <sub>50</sub> de 23,55 μg/ml	Meñaca <i>et al.</i> , 2018
Extracto hidroalcohólico de semilla	DPPH	<i>in vitro</i>	800 μg/ml	inhibición del radical libre 28,23 %	Yarin, 2019
			12000 μg/ml	92.74%	
Fenoles del extracto etanólico de semilla	Variación de temperatura sobre la degradación de los fenoles y la actividad antioxidante	<i>in vitro</i>	-----	Actividad antioxidante se degrada igual que los fenoles	Sepúlveda & <i>et al.</i> , 2019

**Realizado por:** Coronel, S., 2020

La literatura afirma que la actividad antioxidante depende de los compuestos polifenólicos como lo demuestra (Gutiérrez *et al.*, 2010) que las hojas de achiote tienen contenido de polifenoles (3.9 g ácido gálico/100g peso seco) y flavonoides (77.06 mg catequina/100g peso seco) que mantienen correlación con la elevada actividad antioxidante (1.38 mM/100g peso seco) evaluada con la técnica de FRAP, así también (Sepúlveda *et al.*, 2019) concluye que la actividad antioxidante de los extractos depende de su contenido de compuestos fenólicos y del contenido de sólidos totales, por lo que en su estudio demuestra que los fenoles totales son más estables a 14 °B y pH 8.

También se ha demostrado que el efecto antioxidante depende de los métodos y condiciones de extracción, de este modo menciona (Medina, 2015) que las mejores condiciones para la lixiviación es a pH 4, con una relación semilla/solvente de 1:5 y con una concentración de etanol al 80%, sin embargo (Payes, 2017) al realizar la extracción del colorante de achiote con tres tiempos y pH encontró que hay mayor rendimiento al extraer en 60 minutos y a pH 3 alcanzando una masa de colorante de 13.7368 g, lo que representa un rendimiento del 6.8681%.

### **3.2 Acción antioxidante del achiote en productos cárnicos**

Sobre el efecto antioxidante en productos cárnicos se observa los resultados de los estudios realizados por (Ruiz *et al.*, 2014) donde evaluaron la actividad antioxidante en salchichas hot dog apreciándose que los niveles de oxidación lipídica fueron similares independientemente de la formulación así en las salchichas control (CTL) con 0,012 % de nitrito, en las salchichas (RA) con 0,025% de annatto y en las (RC) con 0,05 de carmín, se alcanza un valor promedio TBAR de 1,72 mg MDA/g (miligramos de malonaldehído por gramo) lo que significa que la prevención de la oxidación de lípidos en las muestras RA y RC fue efectiva. Por otro lado (Sánchez *et al.*, 2014) estudiaron la actividad antioxidante del extracto etanólico de annatto combinado con pasta de coproductos de palmera datilera en pate de hígado de cerdo durante 21 días de almacenamiento, concluyendo que la combinación más apropiada para reducir la oxidación es 2,5% de pasta de palmera y 128 mg/kg de annatto, dado que con esta combinación el valor TBA de 0,47mgMDA/kg fue el más bajo con respecto a las otras combinaciones.

De los estudios realizados sobre la actividad antioxidante del achiote sobre productos cárnicos se encontró estudios en diferentes productos y con diferentes concentraciones del extracto de Bixa, los resultados de las investigaciones encontradas se resumen en la tabla 17-3.

**Tabla 17-3:** Efecto antioxidante del achiote en productos cárnicos

Producto	Extracto	Concentración %	POV (meq/kg)	TBA (mgMDA/kg)	Días	Autor/año
	Polvo de					
Hot dog	semilla	0.025	-----	1,72	1	Ruiz & <i>et al.</i> , 2014
Pate de hígado de cerdo	Etanólico de annatto	128 mg/kg	-----	0,47	21	Sánchez & <i>et al.</i> , 2014
	Polvo de	0.025	0.95	0.09	-----	
Salchichas de cerdo	semilla	0.05	0.92	0.1	-----	Tran & <i>et al.</i> , 2016
	(etanólico al 50%)	0.10	0.88	0.11	-----	
		0.20	0.86	0.1	-----	
Empanadas de cerdo	Polvo de semilla	0.10	-----	0.009		
		0.25	-----	0.08	14	Van & <i>et al.</i> , 2016
		0.50	-----	0.013		

**Realizado por:** (Coronel, S., 2020)

En las investigaciones realizadas por (Tran *et al.*, 2016) y (Van Cong *et al.*, 2016) se puede apreciar el uso de la misma concentración de achiote de 0.10%, sin embargo fueron aplicadas a diferentes productos, así para la salchicha de cerdo el valor TBA fue de 0.11 mg MDA/kg y para empanadas de cerdo fue de 0.009 mg MDA/kg. Cabe recalcar que para la salchicha de cerdo se encontró un valor similar para TBA de 0.1 mg MDA/kg, con diferentes concentraciones (0.05% y de 0.20%) del extracto etanólico de semilla de achiote (Tran *et al.*, 2016). Estas variaciones en los valores de TBA se pueden deber a que los extractos están aplicados a diferentes productos por ende abran sufrido diferentes procesos y condiciones de transformación.

En salchichas de cerdo han evaluado el valor POV, encontrándose que el valor más bajo reportado de 0.86 meq/kg, cuando se utiliza una concentración de 0.20% de achiote y el valor más alto de POV de 0.95 meq/kg con una concentración de 0.025%. En cuanto al valor TBA más bajo (0.009 mg MDA/kg) se encontró en las empanadas de cerdo con 0.10% de achiote (Tran *et al.*, 2016).

Las diferencias en los valores para evaluar la actividad antioxidante del achiote tanto *in vitro* como en productos cárnicos, se debe a las condiciones de evaluación, las formas de preparar las muestras, el proceso aplicado en el producto, las técnicas empleadas, el método de extracción y la diferencia de productos cárnicos al aplicar el achiote. En efecto la extracción asistida por



microondas aumento el contenido de polifenoles y bixina junto con su actividad antioxidante en comparación con la extracción por lixiviación (Quiroz *et al.*, 2019).

### 3.3 Acción antimicrobiana in vitro del achiote

En la tabla 18-3 se puede observar un resumen de los resultados de las investigaciones *in vitro* realizadas sobre la acción antimicrobiana del achiote.

**Tabla 18-3:** Resumen de la acción antibacteriana *in vitro* del achiote según varios autores

Extracto	Bacterias	Concentración %	Halo de inhibición mm	CMI	Autor
Metanólico semilla	<i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175)	-----	15.11	31.25 µg/ml	
Metanólico hoja			19.97	62.5 µg/ml	Medina, D., 2015
Metanólico semilla	<i>Streptococcus sanguinis</i> (ATCC 10556)	-----	16.15	125 µg/ml	
Metanólico hoja			19.97	62.5 µg/ml	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	-----	-----	2 048 µg/mg	
Polvo de semilla	<i>Escherichia coli</i>	-----	-----	1 024 µg/mg	Naranjo <i>et al.</i> , 2017
	<i>Staphylococcus aureus</i>	-----	-----	64 µg/mg	
	<i>Bacillus cereus</i>	-----	-----	8 µg/mg	
Hidroalcohólico hoja				2.34mg/ml	
	<i>Mycobacterium abscessus</i> subsp.	-----	-----	37.5mg/ml	Lima <i>et al.</i> , 2018
Fracción de acetato de etilo				0.39 mg/ml	
				2.34 mg/ml	
		25.00	19.43		
Hidroetanólico hoja	<i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175)	50.00	23.35	-----	Callantes, M., 2018
		75.00	26.38		

**Realizado por:** Coronel, S., 2020

Los estudios realizados demuestran la actividad antimicrobiana *in vitro* del achiote encontrando la concentración más baja de inhibición para *Bacillus cereus* de 8 µg/mg, aplicando polvo de achiote y para *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) de 31.25 µg/ml usando extracto metanólico de semilla. Sin embargo también se puede apreciar que presenta actividad antimicrobiana frente a otras bacterias como *Streptococcus sanguinis*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Mycobacterium abscessus* subsp.

### 3.4 Acción antimicrobiana en productos cárnicos

De todas las investigaciones encontradas sobre la actividad antimicrobiana del achiote en productos cárnicos se resumen los resultados en la tabla 19-3 para tener una mejor visibilidad del poder antimicrobiano del achiote aplicado en la industria cárnica.

**Tabla 19-3:** Acción antibacteriana del achiote en productos cárnicos

Producto	Extracto	Concentración %	Recuento B. M		Enterobacteriaceae Log UFC/g	Días	Año/autor
			total Log UFC/g	aeróbica Log UFC/g			
Hot dog	Polvo de semilla	0.025	<3	-----	<1	1	Ruiz <i>et al.</i> , 2014
Pate de hígado de cerdo	Extracto etanólico de annatto/cooproductos de palmera datilera	7,5% p-128mg/kg A	1,99	-----	-----	21	Sánchez <i>et al.</i> , 2014
		2,5% P-128mg/kg A	2,18	-----	-----		
Empanada de cerdo	Polvo de semilla	0.10	4.16	-----	3.83	14	Van <i>et al.</i> , 2016
		0.25	4.37	-----	3.57		
Salchicha de cerdo	Polvo de semilla (etanólico al 50%)	0.50	4.16	-----	3.57		Tran <i>et al.</i> , 2016
		0.025	2,68	-----	2,46		
		0.05	2,58	-----	2,35		
Salchicha Frankfurt	Polvo de semilla	0.10	2,53	-----	2,35		Ferrufino, 2017
		0.20	2,37	-----	2,4		
Chorizo	Polvo de semilla	B		2,67	-----		Ponce, 2018
		75ppm N-0,5% B	<1	3,09	-----		
Longaniza	Polvo de semilla	1		3,07	-----		Ponce, 2018
		5 g/lb	<5	-----	-----		
		2.5 g/lb	<5	-----	-----		

Realizado por: Coronel, S., 2020

La revisión de la literatura dio como resultado que los análisis realizados por (Ruiz *et al.*, 2014) y (Tran *et al.*, 2016) de la actividad antimicrobiana del achiote en productos cárnicos, con una concentración de 0.025 %, al realizar el recuento microbiano total en ambos casos es  $<3 \log$  UFC/g, sin embargo para Enterobacterias en el caso de la salchicha hot dog es menor a  $1 \log$  UFC/g, mientras que en la salchicha de cerdo es  $2,46 \log$  UFC/g. De la misma manera en las observaciones realizadas por (Van Cong *et al.*, 2016) y (Tran *et al.*, 2016) con una concentración similar de 0.10 % de polvo de semilla de achiote, se aprecian valores más altos en empanadas de cerdo ( $4.16 \log$  UFC/g –  $3.83 \log$  UFC/g) tanto en el recuento total como para Enterobacterias, en cambio en las salchichas de cerdo se encuentra  $2.53 \log$  UFC/g y  $2.35 \log$  UFC/g para el recuento total y para Enterobacterias respectivamente. Estas variaciones se dan por que se aplican en diferentes productos cárnicos diferentes concentraciones de extracto de achiote, por la diferencia de las condiciones tanto de extracción de extracto de achiote como de elaboración de los productos y muestras.

Por otro lado en la publicación realizada por (Ferrufino Peña, 2017) acerca de la actividad antimicrobiana del achiote sobre salchichas Frankfurt se identifica el valor más bajo en cuanto al recuento total, tanto en la muestra que contenía el 0.5% de achiote y 75 ppm de nitrito como en la muestra con el 1% de achiote y 0% de nitrito. Ahora bien para Enterobacterias el valor más bajo reportado es en las salchichas hot dog con una concentración de 0.025% de achiote.

Cabe destacar que en productos crudos como es el caso de chorizo y longaniza al aplicar polvo de achiote en los dos casos el recuento total de bacterias es menor a  $5 \log$  UFC/g, pero la concentración es diferente correspondiendo 5g/lb para chorizo y 2,5 g/lb en longaniza (Ponce, 2018) esto puede deberse a la variación de las condiciones de elaboración y el origen de la carne.

Al realizar una comparación de las unidades formadoras de colonia encontradas en los productos crudos y los productos cocidos citados en esta investigación, se aprecia que las unidades formadoras de colonia en los productos cocidos son menores que en los productos crudos, esto se debe al tratamiento térmico que han sufrido al momento de la cocción.

### **3.5 Características relevantes del estudio**

En la investigación del uso de achiote en las formulaciones de productos cárnicos como antimicrobiano y antioxidante también se evaluó las características más relevantes que se pueden ver afectadas como el pH, el color y el análisis proximal, en la tabla 20-3 se puede apreciar los valores de pH, de color evaluados como luminosidad ( $L^*$ ), enrojecimiento ( $a^*$ ) y amarillez ( $b^*$ ) y finalmente los valores de análisis proximal expresado como humedad, proteína y grasa.

**Tabla 20-3:** Características relevantes del uso de achiote en salchichas

Producto/ parámetro	Concentración %	pH	Color			Análisis proximal			Autor
			L*	a*	b*	Humedad	Proteína	Grasa	
Salchicha	20	----	65.09 <sup>b</sup>	10.39 <sup>c</sup>	17.59 <sup>e</sup>	----	----	----	(Zarrinngarani & et al., 2009)
	40	----	64.90 <sup>b</sup>	11.13 <sup>b</sup>	18.93 <sup>d</sup>	----	----	----	
	60	----	64.79 <sup>bc</sup>	11.65 <sup>a</sup>	20.16 <sup>c</sup>	----	----	----	
	80	----	64.25 <sup>c</sup>	11.88 <sup>a</sup>	21.04 <sup>b</sup>	----	----	----	
	100	----	65.84 <sup>a</sup>	9.14 <sup>d</sup>	25.67 <sup>a</sup>	----	----	----	
Salchicha morcug	0.012 N	6.55 <sup>a</sup>	63.66 <sup>b</sup>	12.76 <sup>c</sup>	10.32 <sup>a</sup>	58.32 <sup>a</sup>	12.42 <sup>a</sup>	23.48 <sup>a</sup>	Ruiz & et al., 2014
	0.025 B	5.82 <sup>a</sup>	62.22 <sup>c</sup>	7.11 <sup>a</sup>	15.95 <sup>c</sup>	57.68 <sup>b</sup>	13.54 <sup>a</sup>	23.58 <sup>a</sup>	
Salchichas de cerdo	150 ppm N	6.10 <sup>a</sup>	73.47 <sup>a</sup>	11.58 <sup>d</sup>	4.48 <sup>e</sup>	70.05 <sup>a</sup>	11.30 <sup>a</sup>	17.73 <sup>a</sup>	Tran & et al., 2016
	0.025 B	6.06 <sup>bc</sup>	66.94 <sup>b</sup>	20.65 <sup>c</sup>	20.18 <sup>d</sup>	68.56 <sup>a</sup>	11.21 <sup>a</sup>	17.55 <sup>a</sup>	
	0.05 B	6.04 <sup>cd</sup>	64.84 <sup>c</sup>	22.34 <sup>b</sup>	24.63 <sup>c</sup>	68.43 <sup>a</sup>	10.88 <sup>a</sup>	18.32 <sup>a</sup>	
	0.1 B	6.03 <sup>d</sup>	61.70 <sup>c</sup>	22.32 <sup>b</sup>	26.72 <sup>b</sup>	69.21 <sup>a</sup>	10.97 <sup>a</sup>	17.96 <sup>a</sup>	
	0.2 B	6.00 <sup>e</sup>	57.72 <sup>d</sup>	24.90 <sup>a</sup>	29.59 <sup>a</sup>	69.00 <sup>a</sup>	10.65 <sup>a</sup>	18.84 <sup>a</sup>	
Salchichas Frankfurt	150 ppm N/0% B	6.46 <sup>a</sup>	58.24 <sup>a</sup>	07.39 <sup>c</sup>	16.51 <sup>c</sup>	60.8 <sup>b</sup>	12.3 <sup>a</sup>	15.6 <sup>a</sup>	Ferrufino, 2017
	75 ppm N/ 0.5% B	6.53 <sup>a</sup>	52.94 <sup>b</sup>	17.08 <sup>b</sup>	32.39 <sup>b</sup>	61.7 <sup>a</sup>	11.6 <sup>a</sup>	15.5 <sup>a</sup>	
	0 ppm N / 1% B	6.34 <sup>b</sup>	48.99 <sup>c</sup>	19.48 <sup>a</sup>	36.16 <sup>a</sup>	61.0 <sup>ab</sup>	11.2 <sup>a</sup>	15.6 <sup>a</sup>	

Realizado por: Coronel, S., 2020

En cuanto al análisis proximal ninguno de los autores que realizan salchichas con bixina en sustitución de nitritos encuentran diferencias significativas en cenizas, proteína y grasa. Mientras que con respecto a la humedad (Ruiz & et al., 2014) observa una disminución de 58.32 a 57.68 en salchichas de cerdo, el autor atribuye esta variación a la adicción de fibra dietética de naranja, lo que se confirma con las investigaciones realizadas por (Ruiz & et al., 2014) y (Ferrufino, 2017) que no en contaron diferencias significativas en las variaciones de humedad.

Con respecto al color las salchicha formuladas con achiote todos los autores encontraron que a mayor concentración de annatto menor es la luminosidad, en tanto que el enrojecimiento mientras más achiote contenían las salchichas mayor enrojecimiento presentaban las mismas y finalmente con la amarillez pasaba lo mismo mayor concentración de annatto mayor amarillez estas variaciones en el color los autores coinciden que se debe a los pigmentos propios del achiote (ver anexo D). En cuanto al pH (Ruiz & et al., 2014), (Tran & et al., 2016) y (Ferrufino, 2017) demostraron que al disminuir la concentración de nitrito y elevar la de bixina el pH disminuye significativamente por lo que (Ferrufino, 2017, p. 10) menciona que esto se debe al pH ligeramente ácido de la bixina que va de 5.61 a 5.86.

## CONCLUSIONES

Se puede apreciar que el achiote puede brindar beneficios como antioxidante en los productos de la industria cárnica, el achiote puede reemplazar parcialmente a los productos químicos utilizados para evitar la oxidación de las grasas por su poder antioxidante sobre productos cárnicos.

En la revisión se aprecia que con las concentraciones de achiote utilizadas se consigue disminuir la carga microbiana incluido el *Clostridium* y las *Enterobacterias*, que son las de mayor preocupación para la industria alimentaria, las primeras por su toxicidad y las segundas por ser indicadores de calidad de los alimentos.

Finalmente en la revisión se halló que el uso de achiote en las formulaciones de salchicha no afecta al análisis proximal de las mismas, sin embargo si produce una disminución significativa del pH y una variación en el color especialmente elevado la amarillez y el enrojecimiento, factores que los consumidores valoran.

## **RECOMENDACIONES**

Los productos naturales siempre son la mejor alternativa para una alimentación más saludable y el achiote no es la excepción y según los estudios realizados a de más de ser un potente colorante natural también posee un buen poder antioxidante y antimicrobiano pudiendo remplazar a los productos químicos usados para estos fines, por lo que se recomienda su uso en la industria cárnica para aprovechar sus beneficios como antioxidante y antibacteriano.

## GLOSARIO

**Aminoácidos:** Quím. Sustancia química orgánica que constituye el componente básico de las proteínas (Oxford Languages , 2020).

**Antimicrobiano:** dicese del agente biológico o compuesto químico que inhibe la proliferación de gran número de microorganismos (Aristos, 2012, p. 69).

**Antioxidante:** Sustancia natural o creada por el hombre que puede prevenir o retrasar algunos tipos de daños a las células (MedlinePlus , 2019).

**Bioactivos:** Tipo de sustancia química que se encuentra en pequeñas cantidades en las plantas y ciertos alimentos, que cumplen funciones en el cuerpo que pueden promover la buena salud (Instituto Nacional del Cáncer , 2020).

**Biodisponibilidad:** Criterio que evalúa la proporción y la velocidad de absorción de un medicamento, un alimento o un principio activo, según el modelo en el que se administra o se ingiere (Oxford Languages , 2020).

**Compuestos polifenólicos:** Compuestos químicos que se encuentran ampliamente distribuidos en las plantas, son antioxidantes y pueden contribuir a prevenir algunas enfermedades (Universidad de Chile , 2018).

**Eluir:** Quím. Extraer, mediante un líquido apropiado, una sustancia del medio sólido que la ha absorbido. (RAE, 2019).

**Etnomédicos:** Conjunto de las técnicas y saberes transmitidos de formas tradicional, se utiliza para la prevención y curación de enfermedades (Enciclonet, 2020).

**Fenotipo:** Biol. Conjunto de caracteres hereditarios, cuya aparición es debida a la existencia de sendos genes, que posee cada individuo perteneciente a una determinada especie vegetal o animal (Aristos, 2012, p. 354).

**Flavonoides:** Compuestos fenólicos constituyentes de la parte no energética de la dieta humana (Universidad de Chile , 2018).

**Gelificar:** Trasformar en gel (Oxford Languages , 2020).

**Gradiente:** Relación de la diferencia de presión barométrica entre dos puntos (Aristos, 2012, p. 390).

**Inhibir:** Med. Suspender transitoriamente una función o actividad del organismo mediante la acción de un estímulo adecuado (Aristos, 2012, p. 435).

**Inocuo:** Que no hace daño (Aristos, 2012, p. 436).

**Liposoluble:** Que es soluble en grasas o aceites (Oxford Languages , 2020).



**Peroxidación lipídica:** Biol. Y Quím. Degradación oxidativa de los lípidos, proceso a través del cual los radicales libre capturan electrones de los lípidos en las membranas celulares (Real academia de ingeniería , 2020)

**Productos sustitutos:** son aquellos bienes que pueden ser consumidos en el lugar de otros (Oxford Languages , 2020).

**Sedimentar:** Formar sedimento las materias que un líquido lleva en suspensión (Aristos, 2012, p. 694).

**Seta:** Bot. En ciertas especies, especialmente en la de las gramíneas entre otras, se dice de ciertos órganos, que tienen el pelo tieso y no muy corto (Glosario Bótanica , 2016)

**Valva:** Bot. Cada una de las partes de la cáscara de un fruto (Aristos, 2012, p. 780).

## BIBLIOGRAFÍA

**ARANEDA, Mabel.** *Carnes y derivados. Composición y propiedades.* [blog] 2020. [Consultado: 9 de Junio de 2020.] Disponible en: <https://www.edualimentaria.com/carnes-cecinas-composicion-propiedades>.

**ASOCIACIÓN NACIONAL DE INDUSTRIAS DE LA CARNE DE ESPAÑA (ANICE).** *El sector cárnico español.*[blog] 2019. [Consulta: 10 de Junio de 2020]. Disponible en: [https://www.anice.es/industrias/area-de-prensa/el-sector-carnico-espanol\\_213\\_1\\_ap.html](https://www.anice.es/industrias/area-de-prensa/el-sector-carnico-espanol_213_1_ap.html).

**BÚCARO, Luis.** Evaluación del rendimiento y calidad del extracto colorante de las semillas de achiote (*Bixa orellana* L.) a nivel planta piloto proveniente de cobán alta Verapaz [En línea] (trabajo de titulación).(Ingeniería) Universidad de San Carlos Guatemala, Facultad de Ingeniería Química, Guatemala, Guatemala. 2018. pp. 53-56.[Consulta: 28 de Julio de 2020]. Disponible en: <http://www.repositorio.usac.edu.gt/8792/1/Luis%20Eduardo%20B%C3%BAcaro%20Pape.pdf>.

**CÁRDENAS, Alfredo.** *Embutidos consumo crece en el 14% y motiva las alertas de salud.* El Universo. [En línea] Ecuador. 8 de Julio de 2017. [Consulta: 28 de Julio de 2020]. Disponible en: <https://www.eluniverso.com/2017/07/08/infografia/6268570/embutidos-consumo-crece-14-motiva-alertas-salud>

**CENTRO NACIONAL DE TENOLOGÍA AGROPECUARIA Y FORESTAL.** *Manual técnico del cultivo del achiote.* [blog] 2015. [Consulta: 28 de Junio de 2020]. Disponible en: <http://www.cich.org/Publicaciones/03/CNTAF-Manual-Tecnico-del-Achiote.pdf>.

**CODEX ALIMENTARIUS.** *Composición de la carne.* [blog] 5 de Marzo de 2015. [Consulta: 9 de Junio de 2020]. Disponible en: [http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/backgr\\_composition.html](http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/backgr_composition.html).

**COLLANTES VARGAS, Merly.** Efecto antimicrobiano de tres concentraciones del extracto hidroetanólico de hojas de *Bixa orellana* L. (achiote) frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC25175. [En línea] (Trabajo de titulación).() Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. 22 de Mayo de 2019. pp. 29-33. [Consulta: 3 de Junio de 2020]. Disponible en: <http://repositorio.uladech.edu.pe/handle/123456789/11173>

**CONSEJO MEXICANO DE LA CARNE.** *Compendio estadístico del consejo Mexicano.* [blog] 2019. [Consulta: 11 de Junio de 2020]. Disponible en: [https://comecarne.org/wp-content/uploads/2020/07/Compendio\\_Estad%C3%ADstico\\_2019\\_-\\_Comecarne.pdf](https://comecarne.org/wp-content/uploads/2020/07/Compendio_Estad%C3%ADstico_2019_-_Comecarne.pdf).

**CONTEXTO GANADERO.** *Conozca las propiedades del achiote.* [blog] 9 de Junio de 2017. [Consulta: 22 de Junio de 2020]. Disponible en: <https://www.contextoganadero.com/agricultura/conozca-las-propiedades-del-achiote>.

**DICCIONARIO DE LA LENGUA ESPAÑOLA.** nueva edición. Barcelona: Ramón Sopena, 2012. P.78

**DONA VIDALE, María Antonia & MURILLO CUYO, Marisol del Rocío.** Estudio in vitro del efecto inhibitorio del extracto de achiote (*bixa orellana*) sobre cepas de *streptococcus mutans*. [En línea] (Trabajo de titulación). (Odontología) Universidad Central del Ecuador. 2019. pp. 24-38 [Consulta: 1 de Junio de 2020]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/18333>.

**EL TELÉGRAFO.** *Los ecuatorianos consumen 142 gramos de carne al día.* El Telégrafo. [En línea] Ecuador. 31 de Octubre de 2015. [Consulta: 13 de Junio de 2020]. Disponible en: <https://www.eltelegrafo.com.ec/noticias/sociedad/6/los-ecuatorianos-consumen-142-gramos-de-carnes-al-dia>.

**EL UNIVERSAL.** *Los mexicanos consumen cada vez mas embutidos.* El universal. [En línea] México. 22 de Febrero de 2018. [Consulta: 13 de Junio de 2020]. Disponible en: <https://www.icex.es/icex/es/Navegacion-zona-contacto/revista-el-exportador/noticias/NEW2018780595.html#:~:text=El%20consumo%20per%20c%C3%A1pita%20pas%C3%B3,encarecimiento%20de%20otros%20productos%20c%C3%A1rnicos.&text=S>

eg%C3%BAn%20informa%20el%20diario%20nacional,el%20chorizo%20y%20la%20mortade  
la.

**ENCICLONET.** *Etnomedicina*. [blog] 2020. [Consulta: 16 de Noviembre de 2020]. Disponible en: <http://www.encyclonet.com/articulo/etnomedicina/>.

**FERRUFINO PEÑA, Pedro.** Efecto del remplazo parcial de nitrito de sodio por achiote (*Bixa orellana* L.) en las propiedades de salchichas frankfurter. [En línea] (Trabajo de titulación) (Licenciatura) Universidad Zamorano. Escuela Agricola Panamericana Zamorano.Honduras. 2017. pp. 8-15 [Consulta: 2 de Junio de 2020]. Disponible en: <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6057/1/AGI-2017-023.pdf>.

**FLORES, Jaime.** Proyecto de factibilidad para le creación de una empresa de producción y comercialización de emutidos en la ciudad de Quito. [En línea] (Trabajo de titulación) (Ingeniería comercial) Universidad Politécnica Saleciana. Quito, Ecuador. Enero de 2011. pp. 14-17 [Consulta: 15 de Marzo de 2020]. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5010/1/UPS-QT02101.pdf>.

**FORES JIMENEZ, Victor.** *Prueba del ácido Tiobarbitúrico (TBA) Rancidez oxidativa en lipidos 1*. [blog] 5 de Diciembre de 2011. [Consulta: 16 de Junio de 2020]. Disponible en: <https://sites.google.com/site/rancidezoxidativaenlipidos1/home/prueba-de-del-acido-tiobarbiturico-tba>.

**FUNDACIÓN ESPAÑOLA DEL CORAZÓN (CAE).** *Carne*. [blog]. España: 2020. [Consulta: 9 de Junio de 2020]. Disponible en: <https://fundaciondelcorazon.com/nutricion/alimentos/792-carne.html>.

**GLOSARIO BÓTANICA.** *Glosarios*. [blog]. 28 de Febrero de 2016. [Consulta: 16 de Noviembre de 2020]. Disponible en: <https://glosarios.servidor-alicante.com/botanica/seta>.

**GUTIÉRREZ, Javier, & et al.** "Actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de cuatro plantas medicinales y estiulación de la proliferación de fibroblastos". Revista de la Sociedad

Química del Perú. [En línea], 2010. Perú [Consulta: 6 de Septiembre de 2020]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/3719/371937616008.pdf>. 1810-634X.

**HERNÁNDEZ, Ángel.** *Tratado de nutrición*. [en línea]. Segunda. Medica Panamericana, 2010. pág. 812. Vol. II Composición y calidad nutritiva de los alimentos. [Consulta: 6 de Septiembre de 2020]. Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1695-61412010000200023](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1695-61412010000200023)

**HUAMÁN, Vilma.** El achiote (Bixa Orellana) producción, obtención del colorante, aplicación en los alimentos. (Trabajo de titulación) (Segunda especialización) [En línea] Universidad Nacional de Educación Enrique Guzmán y Valle. Facultad de agropecuaria y nutrición. Lima, Perú. 2018. pp. 10-16. [Consulta: 29 de Julio de 2020]. Disponible en: <http://200.60.81.165/bitstream/handle/UNE/3384/MONOGRAF%c3%8dA%20-%20HUAM%c3%81N%20HURTADO.pdf?sequence=5&isAllowed=y>.

**INSTITUTO NACIONAL DEL CÁNCER.** *Compuesto bioactivo*. [blog] 2020. [Consulta: 16 de Noviembre de 2020]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionario/def/compuesto-bioactivo>.

**IZQUIERDO, Irene, et al.** "Bija o achiote, no solo para colorear". Revista cubana de actualidad general Bohemia. [en línea], 2 de Febrero de 2017, (Cuba) [Consulta: 1 de Julio de 2020]. Disponible en: <http://bohemia.cu/consejos/2017/03/bija-o-achiote-no-solo-para-colorear/>

**LA HORA.** *Los Tsáchilas resaltan los poderes del achiote en Santo Domingo*. Diario La Hora. [en línea] Ecuador. 19 de Abril de 2019. [Consulta: 6 de Julio de 2020]. Disponible en: <https://www.lahora.com.ec/noticia/1102237506/tsachilas-resaltan-los-poderes-del-achiote-ezn-santo-domingo>.

**LEGISLACIÓN ESPAÑOLA.** *Clasificación de productos cárnicos*. [blog] 2016. [Consulta: 10 de Junio de 2020]. Disponible en: <http://www.productoscarnicos.com/clasificacion-de-productos-carnicos/>.

**LEÓN, Alberto.** *¿Cómo utilizan los Tsáchilas el achiote y el huito?*. [blog] 2015. [Consulta: 6 de Julio de 2020]. Disponible en: <https://www.lifeder.com/utilizan-tsachilas-achiote-huito/>.

**LIMA, José, & et al.** "El extracto hidroalcohólico y la fracción de acetato de etilo de las hojas de *Bixa orellana* disminuyen la respuesta inflamatoria a *Mycobacterium abscessus* subsp. *Massiliense*". Biblioteca Nacional de Medicina de EE.UU (PCM). [En línea] 2 de Octubre de 2018. (Estados Unidos) [Consulta: 2 de Agosto de 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6189676/>. 30369954.

**LONDOÑO, Julian.** Antioxidantes: importacia bilógica y métodos para medir su actividad. Biblioteca Digital Lasallista (capítulos de libros). [En línea] 29 de Marzo de 2012. [Consulta: 5 de Agosto de 2020]. Disponible en: <http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/133/3/9.%20129-162.pdf>. 978-958-8406-14-5.

**LÓPEZ, Anayeli, & et al.** "Carotenoides ¿qué son y para qué se usan". Revista ciencia. [en línea] Octubre-Diciembre de 2018. [Consulta: 28 de Julio de 2020]. Disponible en: [https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/69\\_4/PDF/10\\_69\\_4\\_1106\\_Carotenoides\\_L.pdf](https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/69_4/PDF/10_69_4_1106_Carotenoides_L.pdf).

**LOURIDO PEREZ, Hetzel & MARTINEZ SANCHEZ, Gregorio.** "La *Bixa orellana* L. en el tratamiento de afecciones estomatológica, un tema aún por estudiar". Scielo [en línea] Junio de 2010. [Consulta: 1 de Junio de 2020]. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75152010000200012.0034-7515](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152010000200012.0034-7515).

**MEDINA, Dyanne.** Evaluación in vitro del efecto antibacteriano y citóxico del extracto metólico de *Bixa orellana* sobre cepas de *streptococcus mutans* y *streptococcus snguinis*. [En línea] (trabajo de titulación) (Odontología) Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas. Facultad de ciencias de la salud. Lima, Perú. 2015. [Consulta: 2 de Junio de 2020]. Disponible en: <https://repositorioacademico.upc.edu.pe/bitstream/handle/10757/584214/original.pdf.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

**MEDLINEPLUS.** *Antioxidante.* [blog] 8 de Noviembre de 2019. [Consulta: 16 de Noviembre de 2020]. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/antioxidants.html#:~:text=Los%20antioxidantes%20son%20sus tancias%20naturales,alimentos%2C%20incluyendo%20frutas%20y%20verduras.>

**MEÑACA, et al.** Actividad antioxidante del complejo de inclusión del extracto de semilla de Bixa orellana en B-ciclodextrina obtenida por CO<sub>2</sub> supercrítico. (Trabajo de titulación) (Ingeniero) [En línea] Universidad de Antioquia. Colombia. 31 de Agosto de 2018. [Consulta: 8 de Julio de 2020]. Disponible en: <https://revistas.udea.edu.co/index.php/vitae/article/view/325635.2145-2660>.

**MERCADO, Hilberto & ÁLVAREZ, Emilio.** "Determinación de la capacidad antioxidante de los extractos de mole, achiotes y chile pasilla y su efecto protector frente a la peroxidación lipídica de la carne de cerdo". Food Science and Technology [En línea] 2014. [Consulta: 2 de Junio de 2020]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1590/fst.2014.0052.1028-4796>.

**MONTERO-RECLADE, Mayra, et al.** "Evaluación de dos metodos para medir la sensibilidad de inhibicion de crecimiento de la cepa certificada de Staphylococuc aureus subsp. aureus". Scielo [En línea] 4 de Julio de 2018, Perú. [Consulta: 6 de Agosto de 2020]. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v29n4/a52v29n4.pdf>. 1543-1547.

**MUÑOZ, Luis.** Capacidad antioxidante in vitro de los flavonoides totales obtenidos de las hojas de Bixa orellana (achiote), proveniente del distrito de Usquil, provincia de Otuzco, región La Libertad. (Trabajo de titulación) (Bachiller) [En línea] Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú. 2015. pp. 20-28 [Consulta: 8 de Julio de 2020]. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/1549>.

**NARANJO, Ana, et al.** "Optimización del proceso de lixiviación de los compuestos bioactivos de las semillas". Revista Cubana de Plantas medicinales. [en línea], 2017, (Cuba) [Consulta: 31 de Julio de 2020]. Disponible en: [IwAR2VAmgYPn3oGxQCAx87Q9mIp6W0xeU53hkLvliVjwDrvW5c\\_du91TjUIU](http://www.scielo.org/cu/pdf/rcpm/v17n1/a17n1i1.pdf). 1028-4796.

**NARCISO, Leonardo.** *Manual para la producción de achiote (bixa orellana)*. [blog]. 2012. [Consulta: 1 de Julio de 2020]. Disponible en: <https://www.yumpu.com/es/document/read/21913159/manual-para-la-produccion-del-achiote-bixa-orellana-l>.

**NAULA, Patricia.** *El achiote: Símbolo de la vida para los Tsáchilas*. [blog]. 5 de Octubre de 2018. [Consulta: 6 de Julio de 2020.] Disponible en: <https://elproductor.com/el-achiote-simbolo-de-vida-para-los-tsachilas/>.

**ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA (FAO).** *Carne y Productos cárnicos*. [blog] 15 de Marzo de 2019. [Consulta: 9 de Junio de 2020]. Disponible en: <http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/home.html>.

**OXFORD LANGUAGES.** *Aminoacido*. [blog]. 2020. [Consulta: 16 de Noviembre de 2020]. Disponible en: [https://www.google.com.ec/search?sxsrf=ALeKk008fn-6PluqqxyGFHDzIJSkkKf5kA%3A1605540804015&ei=xJuyX848w7jmApKnufAM&q=aminoacidos+definicion&oq=aminoacidos+de&gs\\_lcp=CgZwc3ktYWIQARgAMgcIABBGEPkBMgIIADICCAyAggAMgIIADICCAyAggAMgIIADICCAyAggAOgcIABCwAxBD0gc](https://www.google.com.ec/search?sxsrf=ALeKk008fn-6PluqqxyGFHDzIJSkkKf5kA%3A1605540804015&ei=xJuyX848w7jmApKnufAM&q=aminoacidos+definicion&oq=aminoacidos+de&gs_lcp=CgZwc3ktYWIQARgAMgcIABBGEPkBMgIIADICCAyAggAMgIIADICCAyAggAMgIIADICCAyAggAOgcIABCwAxBD0gc).

**PAYES, Edy.** Obtención y caracterización fisicoquímica del extracto colorante del achiote (*Bixa orellana* L.) a nivel laboratorio. (Trabajo de titulación) (Ingeniería) [En línea] Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala, Guatemala. Marzo de 2017. [Consulta: 6 de Septiembre de 2020]. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/80749109.pdf>.

**PONCE, María José.** Estudio sobre la aplicación del extracto colorante del achiote (*Bixa orellana* L.) en productos alimenticios: queso, embutidos y yogurt. (Trabajo de titulación) (Ingeniería) [En línea] Universidad San Carlos de Guatemala. Guatemala, Guatemala. Septiembre de 2018. pp. 101-102 [Consulta: 4 de Junio de 2020]. Disponible en: <http://www.repositorio.usac.edu.gt/10826/1/Mar%C3%ADa%20Jos%C3%A9%20Ponce.pdf>.

**QUIROZ, Julian , et al.** Optimización del proceso de extracción asistida por microondas de compuestos fenólicos bioactivos de semillas de annatto (*Bixa orellana* L.). [En línea] *Centro Nacional de Información Biotecnológica*. Estados Unidos. 6 de Febrero de 2019. [Consulta: 2 de



Agosto de 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6406707/>. 30736339.

**REAL ACADEMIA DE LA LENGUA ESPAÑOLA (RAE).** *Eluir*. [blog] 2019. [Consulta: 15 de Noviembre de 2020]. Disponible en: <https://dle.rae.es/eluir>.

**REAL ACADEMIA DE INGENIERÍA (RAI).** *Peroxidación lipídica*. [blog]. 2020. [Consulta: 16 de Noviembre de 2020]. Disponible en: <http://diccionario.raing.es/es/lema/peroxidaci%C3%B3n-lip%C3%ADica>.

**REGUILLO, María.** Métodos analíticos para la determinación de antioxidantes en muestras biológicas. (Trabajo de titulación) (Ingeniería) [En línea] Universidad Complutense. Madrid, España. Febrero de 2018. [Consulta: 5 de Agosto de 2020]. Disponible en: <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/MARIA%20DEL%20CARMEN%20REGUILLO%20MU%C3%91OZ.pdf>.

**REVISTA LÍDERES.** "En ocho provincias se concentra el mayor consumo de cárnicos". Revista Líderes. [En línea] 15 de Marzo de 2015. [Consulta: 13 de Junio de 2020]. Disponible en: <https://www.revistalideres.ec/lideres/consumo-carnicos-ecuador.html>.

**REYES, Narciso.** *Conozca las propiedades del achiote*. [blog] Buenos Aires, Argentina. 11 de Junio de 2017. [Consulta: 7 de Julio de 2020]. Disponible en: <https://www.agromeat.com/211830/conozca-las-propiedades-del-achiote>.

**REYES, Zoila Concepción.** Extracción y evaluación del colorante natural de achiote (*Bixa orellana* L.) como sustituto del colorante E-102 amarillo N°5 (tartracina) en la elaboración de un yogurt. (Trabajo de titulación) (Ingeniería) [En línea] Universidad San Carlos de Guatemala. Guatemala, Guatemala. Julio de 2015. pp. 52-56. [Consulta: 1 de Julio de 2020]. Disponible en: <http://www.repositorio.usac.edu.gt/1334/1/Zoila%20Concepcion%20Reyes%20Buenafe.pdf>.

**ROJAS, Jaime.** Efecto de la harina de achiote (*Bixa orellana* L.) en la pigmentación de pollos de carne Cobb-500. (Trabajo de titulación) (Ingeniería) [En línea] Universidad Nacional Toribio

Rodríguez de Mendoza de Amazonas. Facultad de Zootenia, Agronegocios y Biotecnología, Chachapoyas, Perú. 2016. pp. 18-19 [Consulta: 28 de Julio de 2020]. Disponible en: [http://repositorio.untrm.edu.pe/bitstream/handle/UNTRM/415/Efecto%20de%20la%20harina%20de%20achote%20\(Bixa%20orellana%20L.\)%20en%20la%20pigmentaci%C3%B3n%20de%20pollos%20de%20carne%20COBB-%20500.pdf?sequence=1](http://repositorio.untrm.edu.pe/bitstream/handle/UNTRM/415/Efecto%20de%20la%20harina%20de%20achote%20(Bixa%20orellana%20L.)%20en%20la%20pigmentaci%C3%B3n%20de%20pollos%20de%20carne%20COBB-%20500.pdf?sequence=1).

**ROJAS, Victor, et al.** "Uso de un aditivo a base de cantaxantina y extracto de achiote en las dietas de gallinas de postura y su efecto sobre la coloración de la yema y la vida de anaque del huevo". Scielo. [En línea] Trujillo, Perú. Julio de 2015. [Consulta: 5 de Julio de 2020]. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2077-99172015000300005](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2077-99172015000300005).

**ROJAS, Jhon, et al.** "Determinación de la actividad antimicrobiana de diez plantas ,edicinales utilizadas en la medicina folclórica colombiana: una posible alternativa en el tratamiento de infecciones no nosocomiales". Complementary Medicine and Therapies (BMC). [En línea] Colombia. 17 de Febrero de 2006. [Consulta: 2 de Agosto de 2020] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1395329/>. 16483385.

**RUIZ, C., et al.** "Nitrite-free Asian hot dog sausages reformulated with nitrite replacers". Journal of Food Science and Technology. [En línea] 9 de Julio de 2014. [Consulta: 2 de Agosto de 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4486564/>. 26139898.

**SALGUERO, Viviana.** El llamado del achiote. (Trabajo de titulación) (Magister) [En línea] Universidad de Tolima. Tolima, Colombia. Marzo de 2017. pp. 14-20 [Consulta: 28 de Junio de 2020]. Disponible en: <http://repositorio.ut.edu.co/bitstream/001/1993/1/APROBADO%20VIVIANA%20ALEXANDRA%20SALGUERO%20CRUZ.pdf>.

**SALVO, Guillermo.** Estudio del procesamiento de aleta de pota (*Dosidicus gigas*) cocida y coloreada con achiote. (Trabajo de titulación) (Ingeniería) [En línea] Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú. 2016. pp. 20. [Consulta: 3 de Julio de 2020]. Disponible en: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/2683>.

**SÁNCHEZ, A, et al.** "Effect of data palm coproducts and annatto extract on lipid oxidation and microbial quality in a pork liver pate". National Library of Medicine (NIH). [En línea] 28 de Octubre de 2014. [Consulta: 5 de Agosto de 2020]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25349917/>. 10.1111/1750-3841.12678.

**SANCHEZ, Sandra.** Extracción de bixina de tres variedades de achiote (*Bixa orellana* L.) utilizando tres solventes. (Trabajo de titulación) (Ingeniería) [En línea] Universidad Nacional de San Martín, Perú. 2017. pp. 10 [Consulta: 3 de Julio de 2020]. Disponible en: <http://repositorio.unsm.edu.pe/bitstream/handle/11458/3543/FIAI%20-%20Sandra%20Sanchez%20Sanchez.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

**SÁNCHEZ-GARCÍA, Eduardo, et al.** Actividad antimicrobiana. (Artículo) [En línea] Universidad Autónoma de Nuevo León, México. 2016. pp. 81-87 [Consulta: 6 de Agosto de 2020]. Disponible en: <https://www.omniascience.com/books/index.php/monographs/catalog/download/97/410/816-1?inline=1>.

**SEPÚLVEDA, Cindy, et al.** "Extracción de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de hojas de *Bixa orellana* L. (achiote)". Scielo. [En línea] Junio de 2016. [Consulta: 8 de Julio de 2020]. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962016000200002&script=sci\\_arttext&tlng=pt](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962016000200002&script=sci_arttext&tlng=pt).

**SEPÚLVEDA, Cindy & ZAPATA, José.** "Efecto de la Temperatura, el pH y el contenido en sólidos sobre los compuestos fenólicos y las actividad antioxidante del extracto de *Bixa orellana* L." Scielo. [En línea] Octubre de 2019. [Consulta: 8 de Julio de 2020]. Disponible en: [https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0718-07642019000500057&script=sci\\_arttext&tlng=en](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0718-07642019000500057&script=sci_arttext&tlng=en).

**SHAHID-UL-ISLAM, Luqman J. & FAQEER Mohammad.** "Fitoquímica, actividades biológicas y potencial del achiote en la producción de colorantes naturales para aplicaciones industriales". ScienceDirect. [En línea] Mayo de 2016. [Consulta: 13 de Agosto de 2020]. Disponible en: [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2090123215001101?dgcid=raven\\_sd\\_recommender\\_email](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2090123215001101?dgcid=raven_sd_recommender_email).

**TRAN, Cuong & THOA, Nguyen.** "Effects of partial replacement of nitrite by annatto (*Bixa orellana* L.) seed powder on the properties of pork sausages". Jour. [En línea] 31 de Diciembre de 2016. [Consulta: 26 de Julio de 2020]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/334415646\\_EFFECTS\\_OF\\_PARTIAL\\_REPLACEMENT\\_OF\\_NITRITE\\_BY\\_ANNATTO\\_BIXA\\_ORELLANA\\_L\\_SEED\\_POWDER\\_ON\\_THE\\_PROPERTIES\\_OF\\_PORK\\_SAUSAGES](https://www.researchgate.net/publication/334415646_EFFECTS_OF_PARTIAL_REPLACEMENT_OF_NITRITE_BY_ANNATTO_BIXA_ORELLANA_L_SEED_POWDER_ON_THE_PROPERTIES_OF_PORK_SAUSAGES). 10.15625/0866-708X/55/2/8578.

**TRANDER, Rivas.** *Achiote u onoto (Bixa orellana): "Semilla de Fuego" indígena.* [blog]. 15 de Marzo de 2020. [Consulta: 24 de Agosto de 2020]. Disponible en: <https://delamazonas.com/plantas/achiote-bixa-orellana/>.

**UNIVERSIDAD DE CHILE.** Compuesto fenólicos. (Artículo) [En línea] Universidad de Chile. 16 de Marzo de 2018. [Consulta: 16 de Noviembre de 2020]. Disponible en: <https://inta.cl/uFAQs/que-son-los-compuestos-fenolicos/>.

**VAN CONG, Tran & BOK CHIN, Koo.** "Efectos del polvo de semillas de annatto (*Bixa orellana* L.) sobre las propiedades fisicoquímicas, las actividades antioxidantes y antimicrobianas de las empanadas de cerdo durante el almacenamiento refrigerado". Korean Journal for food science año 2016. [En línea] 30 de Agosto de 2016. [Consulta: 30 de Julio de 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5018507/>. 27621688.

**VICARIO ROMERO, I., et al.** Utilización del ensayo del ácido 2-tiobarbitúrico (ATB) para evaluar el proceso de autooxidativo en alimentos. (Artículo) [En línea] Universidad de Sevilla. Facultad de Farmacia. Sevilla, España 1997. [Consulta: 5 de Agosto de 2020]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/profile/Isabel\\_M\\_Vicario/publication/41653502\\_Utilizacion\\_del\\_ensayo\\_del\\_acido\\_2-tiobarbiturico\\_ATB\\_para\\_evaluar\\_el\\_proceso\\_autooxidativo\\_en\\_alimentos/links/0c960534cdcf6ac562000000.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Isabel_M_Vicario/publication/41653502_Utilizacion_del_ensayo_del_acido_2-tiobarbiturico_ATB_para_evaluar_el_proceso_autooxidativo_en_alimentos/links/0c960534cdcf6ac562000000.pdf).

**VILLACRES, Jorge.** *EsSalud recomienda el consumo de achiote para ayudar a desinflamar la próstata y vías urinarias.* [blog]. 4 de Diciembre de 2014. [Consulta: 5 de Julio de 2020].

Disponible en: <http://www.essalud.gob.pe/essalud-recomienda-el-consumo-de-achiote-para-ayudar-a-desinflamar-la-prostata-y-vias-urinarias/>.

**YARIN, Carlos.** Actividad antioxidante in vitro y fotoprotectora in vivo del extracto hidroalcohólico de semillas de Bixa orellana L. "achiot" y elaboración de una forma dermocosmética. (Trabajo de titulación) (Químico Farmacéutico) [En línea] Universidad Mayor de San Marcos,, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica. Lima. Perú. 2019. pp. 45 [Consulta: 9 de Julio de 2020]. Disponible en: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/11501>.

**ZARRINGHALAMI, S., et al.** "Partial replacement of nitrite by annatto as a colour additive in sausage". ScienceDirect. [en línea], Enero de 2009. [Consulta: 2 de Agosto de 2020] DOI 10.1016/j.meatsci.2008.08.003. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030917400800257X>. 22063996.

## ANEXOS

### ANEXO A: FORMULACIÓN DE SALCHICHAS HOT DOG

Table 1

Formulation (%) of Asian hot dog sausages

Sample	Meat	Annatto	Carmine	Nitrite	ODF	Celery	SL	Vit E	Vit C	Water
CN	50	0	0	0.012		0	0			22.23
RC	50	0	0.05	0	1	1	3	0.05	0.05	17.09
RA	50	0.025	0	0	1	1	3	0.05	0.05	17.11

Sample denomination: control sample (CN) was prepared with sodium nitrite. The reformulated samples were prepared without nitrite and with two different colourings, carmine (RC) and annatto (RA), and similar % of celery, sodium lactate (SL) (3 %), orange dietary fibre (ODF) and vitamins C and E. The following ingredients were also added to all samples: 3.8 %, potato starch, 0.5 % species/flavouring, 1.5 % garlic powder, 1.9 % egg white, 17 % sunflower oil, 1.2 % milk powder, 1.4 % sodium chloride, 0.46 % sodium tripolyphosphate

## ANEXO B: FORMULACIÓN DE SALCHICHAS DE CERDO

Table 1. Formulation of pork sausages containing annatto seeds powder.

Ingredients (%)	Treatments					
	CTL	REF	T1	T2	T3	T4
Lean meat	60	60	60	60	60	60
Back fat	5	5	5	5	5	5
Iced water	33	33	33	33	33	33
Salt	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3
STPP	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
Nitrite (ppm)	0	150	37.5	37.5	37.5	37.5
Annatto powder	0	0	0.025	0.05	0.1	0.2

## ANEXO C: FORMULACIÓN DE LAS EMPANADAS DE CERDO CON POLVO DE SEMILLA DE ACHIOTE

Tabla 1.

**Formulación de empanadas de cerdo que contienen polvo de semilla de achiote como afectadas por diferentes cantidades de semilla de achiote (0.1-0.5%)**

Ingredientes (%)	Tratamiento*				
	CTL	AA0.1	ANT0.1	ANT0.25	ANT0.5
Carne cruda	78,5	78,5	78,5	78,5	78,5
gordo	20	20	20	20	20
sal	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Ácido ascórbico	-	0.1	-	-	-
Semilla de anato	-	-	0.1	0.25	0.5 0.5

\* Tratamientos: CTL, empanadas sin semillas de achiote; AA = 0.1% de ácido ascórbico; ANT0.1, 0.25, 0.5 = empanadas que contienen 0.1%, 0.25% y 0.5% de polvo de semilla de achiote, respectivamente.



**ANEXO D: COMPONENTES FOTOQUÍMICOS Y PROPIEDADES FISCOQUÍMICAS DEL POLVO DE SEMILLA DE ANNATTO**

Tabla 2.

**Componentes fitoquímicos y propiedades físicoquímicas del polvo de semilla de annatto (*Bixa orellana* L.)**

	Parámetros	Media ± DE
Componentes fitoquímicos	Carotenoides (mg de bixina / g)	40,33 ± 0,32
	Carotenoides (mg de nor-bixina / g)	31,61 ± 3,88
	TPC (mg GAE / g) <sup>A)</sup>	62,08 ± 2,21
	TFC (mg QE / g) <sup>B)</sup>	5,19 ± 1,52
	Contenido de ácido ascórbico (mg AA / g) <sup>C)</sup>	13,75 ± 4,0
	Capacidad antioxidante total (mg AAE / g) <sup>D)</sup>	17,42 ± 0,45
Propiedades físicoquímicas	pH	5,73 ± 0,01
	Ligereza (L)	40,97 ± 2,41
	Enrojecimiento (a)	15,39 ± 1,33
	Amarillez (b)	5,73 ± 0,86
	Capacidad de retención de agua (%)	39,72 ± 2,21
	Capacidad de retención de petróleo (%)	50,68 ± 3,81
	Solubilidad (%)	45,77 ± 2,41

<sup>A</sup> Los compuestos fenólicos totales se expresaron como mg de ácido gálico equivalente / g dm de polvo de semillas.

<sup>B</sup> El contenido total de flavonoides se expresa en mg de equivalente de quercetina / g dm de polvo de semillas.

<sup>C</sup> Contenido de ácido ascórbico como mg / g dm de polvo de semillas.

<sup>D</sup> La capacidad antioxidante total se expresa como mg de ácido ascórbico equivalente / g dm de polvo de semillas.

## ANEXO E: FORMULACIÓN DE SALCHICHAS FRANKFURT

Cuadro 2. Formulaciones de la salchicha frankfurter para los cuatro tratamientos estudiados.

Materia Prima	N150/B0 (%)	Control (%)	N75/B0.5 (%)	N0/B1 (%)
Res 1	22.00	22.00	22.00	22.00
Res 2	10.00	10.00	10.00	10.00
CDM de pollo	30.00	30.00	30.00	30.00
Cerdo 3	13.00	13.00	13.00	13.00
Hielo	15.00	15.00	15.00	15.00
Almidón de papa	2.80	2.80	2.31	2.01
Azúcar	1.00	1.00	1.00	1.00
Ajo en polvo	0.12	0.12	0.12	0.12
Tripolifosfato de sodio	0.54	0.54	0.54	0.54
Nuez moscada	0.19	0.19	0.19	0.19
Pimienta negra	0.25	0.25	0.25	0.25
Eritorbato de sodio	0.05	0.05	0.05	0.05
Achiote	0.00	0.00	0.50	1.00
Sal nitrificada (6.25%)	0.23	0.00	0.12	0.00
Sal yodada	1.98	2.20	2.08	2.00
Lactato de sodio solución al 60%	2.85	2.85	2.85	2.85
Total	100.00	100.00	100.00	100.00

CDM: Carne Deshuesada Mecánicamente.

Res 1: Recortes de carne de res con proporción de carne y grasa (90:10).

Res 2: Recortes carne de res con proporción de carne y grasa (60:40).

Cerdo 3: Recortes carne de carne de cerdo con proporción de carne y grasa (50:50).

Control: salchicha frankfurter sin adición de nitrito de sodio y *Bixa orellana*; N150/B0: salchicha frankfurter con 150 ppm de nitrito de sodio y 0% de *Bixa orellana*; N75/B0.5: salchicha frankfurter con 75 ppm de nitrito de sodio y 0.5% de *Bixa orellana*; N0/B1: salchicha frankfurter con 0 ppm de nitrito y 1% de *Bixa orellana*.

**ANEXO F: FORMULACIÓN DE CHORIZO Y LONGANIZA**

<b>Alimento</b>	<b>Materia prima</b>	<b>Ingredientes</b>	<b>Formulación</b>
Chorizo	Carne de cerdo	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Carne de cerdo</li> <li>• Tocino de cerdo</li> <li>• Sal</li> <li>• Azúcares</li> <li>• Colorante natural</li> <li>• Ajo</li> <li>• Pimienta</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 80 % (m/m) de carne de cerdo.</li> <li>• 20 % (m/m) de tocino de cerdo</li> <li>• 5 % (m/m) de especies vegetales</li> <li>• 2,5 g de colorante por media libra de carne usada</li> </ul>
Longaniza	Carne de cerdo	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Carne de cerdo</li> <li>• Tocino de cerdo</li> <li>• Sal</li> <li>• Azúcares</li> <li>• Colorante natural</li> <li>• Ajo</li> <li>• Pimienta</li> <li>• Hierba buena</li> <li>• Picante</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 80 % (m/m) de carne de cerdo.</li> <li>• 20 % (m/m) de tocino de cerdo</li> <li>• 5 % (m/m) de especies vegetales</li> <li>• 1,25 g de colorante por media libra de carne usada</li> </ul>





**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA  
DE CHIMBORAZO**



**DIRECCIÓN DE BIBLIOTECAS Y RECURSOS  
PARA EL APRENDIZAJE Y LA INVESTIGACIÓN**

**UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS**

**REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA**

**Fecha de entrega:** 24 / 09 / 2020

<b>INFORMACIÓN DE LA AUTORA</b>
<b>Nombres – Apellidos:</b> SELIA PAOLA CORONEL CORONEL
<b>INFORMACIÓN INSTITUCIONAL</b>
<b>Facultad:</b> CIENCIAS PECUARIAS
<b>Carrera:</b> INDUSTRIAS PECUARIAS
<b>Título a optar:</b> INGENIERA EN INDUSTRIAS PECUARIAS
<b>f. Analista de Biblioteca responsable:</b>

