

Aplicación de la páprika extraída por fluidos supercríticos y microencapsulada por spray-drying en un producto embutido. Una alternativa como colorante natural*

Maritza Andrea Gil Garzón**, Julián Londoño-Londoño***, María Isabel González Hurtado****, Leonidas de Jesús Mill n Cardona*****, Cristian Camilo Sanabria Rincón*****

Resumen

Introducción. Los estudios de aplicación en matrices alimenticias de aditivos naturales obtenidos por tecnologías competitivas comercial, ambiental y nutricionalmente son necesarios para ofrecer nuevas alternativas a la industria que respondan a las tendencias de consumo de productos naturales y saludables; de all  que la obtención de un colorante natural a partir de la oleoresina de páprika (ORP) extraída a escala semi-industrial por fluidos supercríticos (FSC) y microencapsulada por *spray-drying*, para ser aplicada en un embutido cárnico, es una opción para la industria de aditivos de alimentos que requiere ser evaluada para su futura oferta en el mercado mundial. **Objetivo.** Evaluar la efectividad, en términos de la capacidad colorante sobre un chorizo, de la ORP obtenida por FSC y comparada con la ORP microencapsulada por *spray-drying*. **Metodología.** La extracción por FSC-CO₂ a escala semi-industrial se llevó a cabo a 350 bar y 60 C. La ORP obtenida fue caracterizada por sus grados ASTA y presencia de α , β -carotenos identificados por HPLC. En la microencapsulación las condiciones del secado fueron: $T_{\text{entrada}}: 180^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}, T_{\text{salida}}: 90^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$. La relación oleoresina/encapsulante fue 1:10, con una mezcla de almidón modificado y

maltodextrina (75:25). Las microcápsulas se caracterizaron por el estudio de estabilidad de estas y SEM. La efectividad de la capacidad colorante entre la ORP y microcápsulas sobre un chorizo se evaluó con un Sistema DigiEyey sus diferencias fueron evaluadas con respecto a una ORP comercial mediante un análisis de varianza de dos factores. **Resultados.** La ORP presentó un valor ASTA de $716,3 \pm 5$ y el rendimiento de la extracción fue $14,6 \pm 0,9$, con un perfil de α , β -carotenos superior al presentado en el pimentón. Las microcápsulas, con una tamaño entre 11 y 21 μm , presentaron una mayor estabilidad. El cambio de color en el chorizo, de acuerdo con el patrón de referencia, fue menor en el producto elaborado con ORP extraída por FSC que con la ORP microencapsulada. **Conclusión.** El uso de la extracción por FSC y la microencapsulación a escala semi-industrial permite obtener un producto libre de solventes orgánicos y con mayor tiempo de vida útil; además, durante la aplicación en un producto cárnico embutido se requiere una mayor proporción de ORP microencapsulada para obtener la misma capacidad colorante que tiene la ORP en condiciones industriales actualmente empleadas.

Palabras clave: fluidos supercríticos, secado por aspersión, *capsicum annum L.*, grados ASTA.

* Artículo derivado de la investigación "Aplicación de la páprika extraída por fluidos supercríticos y microencapsulada por spray-dryer en un producto embutido. Una alternativa como colorante natural", financiada por el Fondo para el Desarrollo de la Investigación de la Corporación Universitaria Lasallista durante 2012.

** Magíster en Ciencia-Química, Ingeniera de Alimentos. Docente coordinadora del programa de Ingeniería de Alimentos de la Corporación Universitaria Lasallista. magil@lasallista.edu.co

*** PhD. En Ciencias Químicas. Químico Farmacéutico. Director del grupo de investigación GRIAL, docente del programa de Ingeniería de Alimentos de la Corporación Universitaria Lasallista. julondono@lasallistadoctores.edu.co

**** Magíster en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Ingeniera de Alimentos. Jefe de Investigación y Desarrollo. Industria de Alimentos Zenú S.A.S. mgonzalez@zenu.com.co

***** Magíster en Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Ingeniero Industrial. Director del grupo de investigación G-3IN de la Corporación Universitaria Lasallista. leMillan@lasallistadoctores.edu.co

***** Estudiante del programa de Ingeniería de Alimentos e integrante del semillero Innova de la Corporación Universitaria Lasallista. crisanabria@ulasallista.edu.co

Application of paprika extracted by supercritical fluids and microencapsulated by spray-drying, in a stuffed product. An alternative as a natural dye

Abstract

Introduction. The studies about natural additives obtained through commercially, environmentally and nutritionally competitive technologies applied to alimentary matrices, are necessary to offer new alternatives to the industry that respond to the consumption trends of natural and healthy products. Therefore, obtaining a natural dye from paprika's oleoresin (POR) extracted at a semi-industrial scale with supercritical fluids (SCF) and microencapsulated by *spray-drying* to be applied to a meat sausage, is an option for the industry of food additives that must be evaluated for its future offer in markets worldwide. **Objective.** Evaluate the effectiveness of the coloring capacity on a sausage of the POR obtained by SCF, and compare it with the capacity of the POR microencapsulated by *spray-drying*. **Methodology.** The extraction by SCF-CO₂ at a semi industrial scale was performed at 350 bar and 60°C. The POR obtained was characterized by its ASTA degrees and by the presence of β , α -carotenes identified by HPLC. In the microencapsulation, the drying conditions were: T_{input} : 180°C±2°C, T_{output} : 90°C±5°C. The relationship oleoresin/encapsulant was 1:10, with a mixture of modified starch and maltodextrin (75:25). The microcapsules were characterized with the study of their stability and SEM. The effectiveness of the coloring capacity between the POR and the microcapsules on a sausage was evaluated with a DigiEye system and the differences were evaluated by the comparison with a commercial POR, with a two factors variance analysis. **Results.** The POR had an ASTA value of 716,3±5 and the extraction yield was 14.6±0,9, with a β , α -carotene profile above the one obtained with the cayenne. The microcapsules, with sizes between 11 and 21 μ m, were more stable. The change of color in the sausage, according to the reference pattern, was lower in the product made with POR extracted by SCF than it was in that of the microencapsulated POR. **Conclusion.** The use of the extraction with SCF and the microencapsulation at a semi industrial scale is useful to have a product free of organic solvents and with a longer life. Besides, during its application on a stuffed meat product, a higher proportion of POR microencapsulated is required to obtain the same coloring capacity the POR has under the industrial conditions used nowadays.

Key words: supercritical fluids. Spray drying, *capsicum annum L.*, ASTA degrees.

Aplicação da páprica extraída por fluidos supercríticos e microencapsulada por spray-drying num produto embutido. uma alternativa como corante natural

Resumo

Introduo. Os estudos de aplicao em matrizes alimentícias de aditivos naturais obtidos por tecnologias competitivas comercial, ambiental e nutricionalmente são necessários para oferecer novas alternativas  indústria de produtos que respondam às tendências de consumo de produtos naturais e saudáveis; de ali que a obteno de um corante natural a partir da oleoresina de páprica (ORP) extraída a escala semi-industrial por fluidos supercríticos (FSC) e micro encapsulada por *spray-drying*, para ser aplicada num embutido cárnico,  uma opo para a indústria de aditivos de alimentos que requer ser avaliada para sua futura oferta no mercado mundial. **Objetivo.** Avaliar a efetividade, em termos da capacidade corante sobre um chouriço, da ORP obtida por FSC e comparada com a ORP micro encapsulada por *spray-drying*. **Metodologia.** A extrao por FSC-CO₂ a escala semi-industrial se levou a cabo a 350 bar e 60°C. A ORP obtida foi caracterizada por seus graus ASTA e presença de α , β -carotenos identificados por HPLC. Na micro encapsulao as condioes do secado foram: Tenada: 180°C±2°C, Tsalida: 90°C±5°C. A relao oleoresina/encapsulante 1:10, com uma mistura de goma modificada e maltodextrina (75:25). As microcápsulas se caracterizaram pelo estudo de estabilidade destas e SEM. A efetividade da capacidade corante entre a ORP e microcápsulas sobre um chouriço se avaliou com um Sistema DigiEye y suas diferenças foram avaliadas com respeito a uma ORP comercial mediante uma análise de variância de dois fatores. **Resultados.** A ORP apresentou um valor ASTA de 716,3±5 e o rendimento da extrao foi 14.6±0,9, com um perfil de α , β -carotenos superior ao apresentado no pimentão. As microcápsulas, com uma tamanho entre 11 e 21 μ m, apresentaram uma maior estabilidade. A mudança de cor no chouriço, de acordo com o padrão de referência, foi menor no produto elaborado com ORP extraída por FSC que com a ORP micro encapsulada. **Conclusão.** O uso da extrao por FSC e a micro encapsulao a escala semi-industrial permite obter um produto livre de solventes orgnicos e com maior tempo de vida útil; ademais, durante a aplicao num produto cárnico embutido se requer uma maior proporo de ORP micro encapsulada para obter a mesma capacidade corante que tem a ORP em condioes industriais atualmente empregadas.

Palavras importantes: fluidos supercríticos, secado por aspersão, *capsicum annum L.*, graus ASTA.

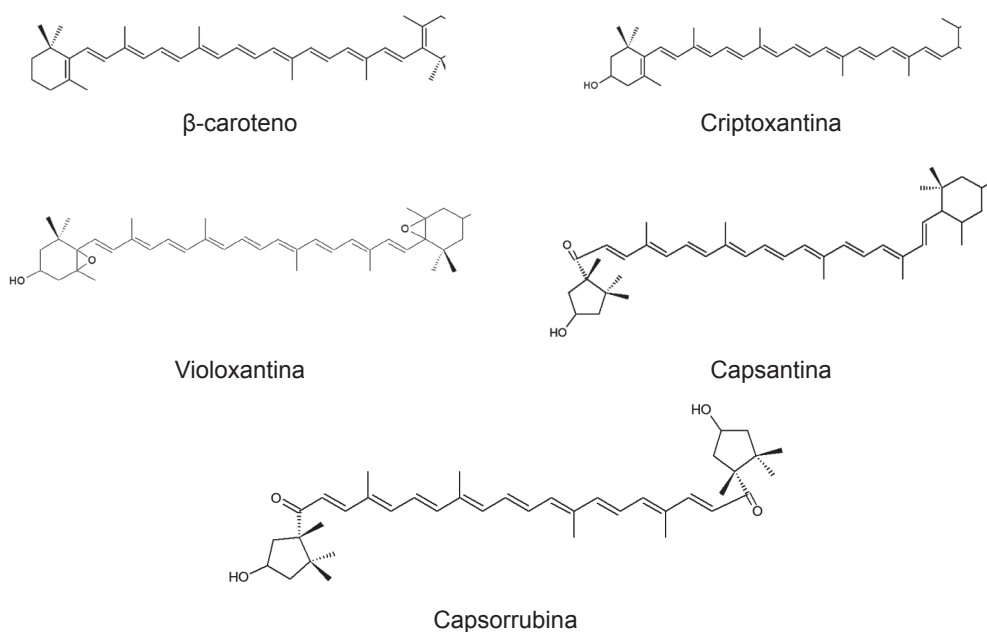
Introducción

Los carotenoides cobran gran importancia dentro de la industria de colorantes naturales, ya que son considerados como uno de los principales pigmentos orgánicos. Existen alrededor de 600 estructuras distribuidas en 52 variedades de planta, pero solo alrededor de 24 de estas son encontradas en productos para consumo humano^{1,2}.

En la mayoría de los casos, los carotenoides se encuentran en su forma *trans*, lo que facilita su asociación con proteínas, pero dificulta su extracción, identificación y análisis durante la digestión. De allí que los carotenoides sean estables en su ambiente natural, pero durante la maduración son más lábiles. De otra parte, la digestión de los carotenoides es limitada por su biodisponibilidad; de esta forma, los carotenoi-

des suministrados por vía oral como suplementos, solución o suspensión en aceite son mejor absorbidos³ que aquellos que se encuentran en alimentos con un alto contenido de fibra, la cual puede disminuir las concentraciones de carotenoides en el plasma⁴.

Por lo anterior, la presentación de los carotenoides disponibles en sus matrices oleosas naturales es la mejor forma para la absorción y aprovechamiento de los principios activos. Una de las matrices oleosas más importante de la industria de alimentos empleada como colorante natural^{5,6} o fortificante⁷ es aquella conocida como oleoresina extraída de la páprika en polvo (*Capsicum annum L.*), la cual es una mezcla de carotenos o pigmentos rojos y amarillos disueltos en triacilgliceridos (TAG). Los principales carotenos presentes en la oleoresina de páprika se representan en el gráfico 1⁸.



Gráfico 1. Estructuras de los principales carotenos presentes en la páprika

Fuente: NAGY, V., *et al.*⁹

La tecnología de extracción por fluidos supercríticos surge como una alternativa para la obtención de la oleoresina de páprika y de esta forma sustituir métodos convencionales de extracción sólido-líquido soxhlet, que actualmente son restringidos en varios países, debido a la

residualidad de los solventes empleados como hexano, éter de petróleo, acetato de etilo, entre otros, que son altamente txicos¹⁰.

Existen varios estudios que reportan el empleo de FSC-CO₂ para la extracción de la oleorre-

sina de páprika, en los que se han variado las condiciones de presión que van en un rango entre 137.9 - 482.6 bares con el fin de ver la selectividad de extracción de acuerdo con la polaridad de los compuestos; Jarn-Galn y otros emplearon co-solventes como etanol y acetona para aumentar el rendimiento¹¹. Gnayfeed, Daood y Biacs estudiaron el efecto de la variación de la presión y de la temperatura al mismo tiempo, y encontraron mayor solubilidad de los carotenos responsables de la fracción roja a mayor presión y temperatura¹². Finalmente, Gil y otros evaluaron la optimización de las condiciones de extracción en función de la variación de la presión de la temperatura y de la calidad del color del producto obtenido, y encontraron que la extracción permitió la conservación del α , β -caroteno presente en la páprika y una actividad antioxidante representativa¹³.

A pesar de los avances en los métodos de extracción de la ORP, existen aspectos técnicos de introducción a diferentes matrices alimentarias o farmacéuticas que por sus propiedades fisicoquímicas (inestabilidad de los compuestos responsables del color, baja solubilidad, alta viscosidad) aún no se han resuelto y que de ser solucionados podrían ampliar aún más los mercados nacionales e internacionales, tanto en el área de los alimentos como en la farmacéutica y en la cosmética.

Una de las alternativas de transformación de la ORP es la microencapsulación por *spray-drying*, la cual permite convertir la oleorresina en material finamente granulado, soluble, estable, de fácil manejo, almacenamiento y transporte, y además, con la ventaja de evitar el cambio en las características organolépticas causado por interacciones con factores externos y mejorando así los procesos de biodisponibilidad de los compuestos bioactivos o funcionales¹⁴⁻¹⁶.

Con base en lo anterior, se definió como objetivo de este trabajo de investigación evaluar la efectividad, en términos de la capacidad colorante

sobre un producto cárnico embutido, de la ORP obtenida por fluidos supercríticos y comparada con la ORP microencapsulada por *spray-drying*.

Materiales y métodos

Materiales

La páprika en polvo fue suministrada por la empresa C.I. Química Aromática Andina S. A. Los reactivos empleados grado analítico fueron marca Merck y el dióxido de carbono del 99.5%, suministrado por la empresa CRYOGAS.

Métodos

Tratamiento preliminar de la materia prima.

La páprika seca (máximo 8% de humedad) fue almacenada en un lugar seco antes de ser incorporada en el proceso productivo. El tratamiento preliminar de la materia prima fue la reducción de partículas en un molino de pines T-17 y tamizaje con una malla 40 (20-30 mesh) hasta llegar a una granulometría de 500 μ m.

Caracterización de la materia prima. La calidad de la muestra molida fue verificada por los análisis bromatológicos (grasa, cenizas, humedad y proteína) y microbiológicos (aerobios mesófilos, recuento de mohos y levaduras, coliformes, salmonella) bajo los procedimientos establecidos por la AOAC¹⁷.

Extracción de la oleorresina con CO₂ supercrítico a escala semi-industrial.

La extracción se realizó en un equipo semi-industrial, marca GuangzhouWeiyaEconomic Training Co Ltda., el cual consta de dos separadores, con una capacidad de 12 L y una columna de separación de 4L.

La extracción se realizó con base en las condiciones óptimas recomendadas por Gil y otros en 2010, que se describen en la tabla 1¹⁸:

Tabla 1. Condiciones del equipo para la extracción por fluidos supercríticos de la ORP

Parámetro	Valor
Cantidad de materia vegetal (páprika en polvo)	5.000 g
Solvente	Dióxido de carbono, CO ₂
Presión	350 Bar
Temperatura del extractor 1	60°C
Temperatura del extractor 2	70°C

Fuente: elaboración propia

Evaluación del color de la oleoresina de páprika por grados ASTA. La calidad, en términos de color de la oleoresina, está determinada por la relación de los compuestos responsables del color amarillo (β -caroteno + β -criptoxantina + capsoluteína + zeaxantina + violaxantina) y rojo (capsantina + capsorubina) y se evaluó por el método de Grados ASTA descrito por Mínguez-Mosquera y otros¹⁹

Identificación de α , β -carotenos. La identificación de los carotenos se realizó según el método modificado de Collera-Zuñiga y otros. El análisis se realizó por HPLC-DAD Agilent; la separación se realizó en una columna YMC J'Sphere ODS de 250x4,6mmx4 μ m de diámetro de partícula, de acuerdo con el gradiente con acetona:agua de 75:25 (20 min) y de 90:10 (5 min.); después de 15 minutos más se volvió a las condiciones iniciales, para una corrida final de 40 min. El caudal de la fase móvil se mantuvo constante a 1 mL/min. El volumen de inyección de la muestra fue 20 μ L. La identificación de los compuestos se realizó mediante la información proporcionada por sus espectros y comparados con el perfil del pimentón como referencia, a 452 nm y el tiempo de retención del pico correspondiente al estándar de α , β -caroteno inyectado previamente²⁰.

La preparación de la muestra consistió en la extracción de 0.1 g de muestra con una relación de solventes de hexano: acetona:alcohol absoluto: tolueno (10:7:6:7), respectivamente, a la que luego fue adicionada una solución de KOH al 40%; posteriormente, se realizó la saponificación en caliente a 56°C durante 20 min. La mezcla se dejó enfriar a temperatura ambiente en un cuarto oscuro durante una hora. Pasado este tiempo, se le adicionaron 30 mL de hexano y se aforó hasta 100 mL con una solución de Na₂SO₄ al 10%; después de la agi-

tación se dejó reaccionar durante una hora hasta obtener dos fases. La fase superior se empleó para el análisis²¹.

Microencapsulación por *spray-drying*. Fueron homogenizados 40 g de ORP con una mezcla de encapsulantes compuesta por 25% de maltodextrina (10 equivalentes dextrosa) y 75% de almidón modificado (Capsul®), en una relación 1: 10ORP: encapsulantes, respectivamente, hasta alcanzar una solución de 30° Brix. El almidón modificado fue hidratado previamente durante 12 h. Cada preparación fue homogeneizada con un Ultraturrax IKA T50 a 6400 rpm por 5 min.

Las soluciones fueron alimentadas a un equipo de secado por aspersión Mini Buchi B-290. La temperatura de inyección fue 180 \pm 2°C y de T salida 90 \pm 5°C, el flujo de aire, la velocidad de alimentación y la presión de atomización fueron 600 L/h, 15mL/min y 35 psi, respectivamente, para ambos agentes encapsulantes.

Determinación de la eficiencia de la microencapsulación. El rendimiento se siguió según el método de Fagen et al. El porcentaje de oleoresina atrapada se determinó lavando 10 mg de oleoresina con 0.5 mL de etanol absoluto y filtrado en un papel de filtro Whatman N°1; el residuo sólido fue disuelto en cloroformo y agitado en un sonicador durante 5 minutos; la solución resultante fue leída en un espectrofotómetro Jenway, a 460nm²².

Estabilidad de la oleoresina atrapada dentro de la microcápsula. Se tomaron muestras en tres momentos (1, 15 días y 30 días) y se calculó el porcentaje de retención del analito por medio de la siguiente ecuación:

$$\% \text{Retención} = (\text{Abs}_{(460\text{nm})} / \text{Abs}_{(t=0)}) \times 100 \quad (2)$$

Donde:

$Abs_{(460nm)}$: absorbancia de la muestra en los diferentes tiempos (15 días y 30 días)

$Abs_{(t=0)}$: absorbancia en el tiempo cero

Se graficó el semi-logaritmo de los porcentajes de retención contra tiempo, a fin de determinar la constante de velocidad (k) de la pendiente del gráfico LN (% de retención atrapados o material microencapsulado contra el tiempo expresado en días).

Determinación del tamaño de la microcápsula.

La estructura externa de las microcápsulas obtenidas fue analizada mediante microscopía de barrido electrónico (SEM). Las muestras fueron previamente recubiertas con oro usando un equipo de vacío Varian Vacuum Evaporator PS 10E (USA) y posteriormente analizadas en un microscopio de barrido electrónico JEOL JSM-5950 LV (USA) operado a 15 kv de corriente eléctrica y a 25 Pa de vacío. Las imágenes fueron obtenidas con una cámara Kodak 120 T-Max ISO 100 film acoplada al microscopio²³.

Aplicación de la páprika en un producto embutido. El producto embutido a evaluar fue

un chorizo que se preparó con una oleoresina comercial como referencia para compararlo con los embutidos preparados con la oleoresina extraída por FSC y otra con la oleoresina microencapsulada. Tanto la ORP comercial como la extraída por FSC se aplicaron a un nivel del 0,1% y la concentración de la ORP microencapsulada al 1%, para asegurar el mismo aporte de la ORP, ya que cada microcápsula está preparada en una relación 1:10 (ORP: encapsulantes)²⁴.

Análisis de color en el producto embutido.

Para la determinación de color del producto embutido se midieron las coordenadas L^* , a^* , b^* , C^* , h^* , mediante el sistema Digi Eye versión 2.60, el cual cuenta con una cámara digital Nikon D 90. El equipo captura y mide digitalmente el color en su contexto, no aisladamente, tal y como lo percibe el consumidor. A partir de las variables L^* , a^* , b^* se determinó el cambio de color ΔE con respecto a una oleoresina de páprika comercial, empleada como blanco, con la siguiente ecuacin²⁵:

$$\Delta E = \sqrt{\left(\frac{\Delta L'}{K_L S_L}\right)^2 + \left(\frac{\Delta C'}{K_C S_C}\right)^2 + \left(\frac{\Delta H'}{K_B S_B}\right)^2 + R_T \left(\frac{\Delta C'}{K_C S_C}\right) \left(\frac{\Delta H'}{K_B S_B}\right)} \quad (3)$$

Donde:

$$L' = (L_1 + L_2)/2$$

$$C_1 = \sqrt{a_1^2 + b_1^2}$$

$$C_2 = \sqrt{a_2^2 + b_2^2}$$

$$\bar{C} = (C_1 + C_2)/2$$

$$G = \frac{\left(1 - \sqrt{\frac{C^7}{C^7 + 25^7}}\right)}{2}$$

$$a'_1 = a_1(1 + G)$$

$$a'_2 = a_2(1 + G)$$

$$C'_1 = \sqrt{a'^2_1 + b_1^2}$$

$$C_2' = \sqrt{a_2'^2 + b_2'^2}$$

$$\bar{C}' = (C_1' + C_2')/2$$

$$h_1' = \begin{cases} \tan^{-1}(b_1/a_1) \tan^{-1}(b_1/a_1) \geq 0 \\ \tan^{-1}(b_1/a_1) + 360^\circ \tan^{-1}(b_1/a_1) < 0 \end{cases}$$

$$h_2' = \begin{cases} \tan^{-1}(b_2/a_2) \tan^{-1}(b_2/a_2) \geq 0 \\ \tan^{-1}(b_2/a_2) + 360^\circ \tan^{-1}(b_2/a_2) < 0 \end{cases}$$

$$H' = \begin{cases} h_1' + h_2' + 360^\circ/2 |h_1' - h_2'| > 180^\circ \\ (h_1' + h_2')/2 |h_1' - h_2'| \leq 180^\circ \end{cases}$$

$$T = 1 - 0.17 \cos(H' + 30^\circ) + 0.24 \cos(2\bar{H}' + 6^\circ) - 0.20 \cos(4\bar{H}' + 63^\circ)$$

$$\Delta h' = \begin{cases} h_2' - h_1' |h_2' + h_1' \leq 180^\circ \\ h_2' - h_1' + 360^\circ |h_2' - h_1' > 180^\circ; h_2' \leq h_1' \\ h_2' - h_1' - 360^\circ |h_2' - h_1' > 180^\circ; h_2' > h_1' \end{cases}$$

$$\Delta L' = L_2 - L_1$$

$$\Delta C' = C_2' - C_1'$$

$$\Delta H' = 2\sqrt{C_1' C_2'} \sin(\Delta h'/2)$$

Diseño estadístico. La comparación del color de la oleoresina extraída por FSC y microencapsulada con respecto a la oleoresina comercial se realizó mediante un análisis de varianza de dos factores²⁶. El primer factor comprendido por un tratamiento con seis niveles (Oleoresina microencapsulada 1, 2 y 3, oleoresina extraída por fluidos supercríticos 1, 2 y 3). El segundo factor evaluado fue la parte del embutido donde se analizó el color, en este caso fueron dos niveles (interior y superficie). El valor óptimo de referencia es el ΔE próximo a un valor cero "0". Se empleó un nivel de confianza del 95% y para determinar diferencias significativas se trabajó con un nivel de potencia del 80%. Los datos se analizaron por medio del programa Statgraphics Centurión, licencia amparada por la Corporación Universitaria Lasallista.

Todos los análisis fueron realizados por triplicado.

Resultados y análisis

Caracterización de la materia prima

La tabla 2 muestra los resultados de la caracterización fisicoquímica y microbiológica de la paprika en polvo.

De acuerdo con la Resoluci3n 4241 de 1991 del Ministerio de Salud de Colombia, en la cual se definen las caracteristicas de las especias o condimentos vegetales y se dictan normas sanitarias y de calidad de estos productos y de sus mezclas²⁷, los valores descritos en la

tabla 2 para la páprika en polvo cumplen con los parámetros establecidos para ser emplea-

da como materia prima en la obtención de la oleorresina de páprika como colorante natural.

Tabla 2. Caracterización físico-química y microbiológica de la páprika en polvo

Análisis bromatológico	
Grasa	11.96±(0.30)
Cenizas	10.67±(0.07)
Humedad	7.30±(0.20)
Proteína (%N)	2.36±(0.12)
Proteína total	14.94±(0.77)
Análisis microbiológico	
Coliformes fecales	Ausente (Máximo 40)
Esporas clostridium sulfito reductor /g	<100 (Máximo 1000)
Bacillus cereus	<100 (Máximo 1000)
Hongos y levaduras	100 (Máximo 5000)

Fuente: elaboración propia

Oleorresina de páprika

La oleorresina de páprika industrialmente es obtenida, por un lado, por extracción convencional Soxhlet con solventes orgánicos, como hexano, éter de petróleo, acetato de etilo, entre otros; por otro lado, la extracción por fluidos supercríticos es una de las tecnologías más empleadas actualmente por las bondades que presenta al no dejar residuos de solventes tóxicos, no permitidos en la mayoría de países para materias primas alimentarias²⁸.

Las principales ventajas de la extracción por soxhlet consisten en el rendimiento y el bajo costo de producción, razones por las cuales en el sector productivo es más empleado, pero esta concepción ha ido cambiando en los últimos tiempos por la tendencia de los consumidores de adquirir productos naturales, inocuos y en su defecto con propiedades funcionales; de all  que la extracción por fluidos supercríticos para la obtención de la oleorresina de páprika haya aumentado como remplazo de colorantes rojos y anaranjados artificiales, como alternativa para cubrir de manera acelerada un mercado importante como el de México, que importa alrededor de 6225 ton/a anual y en general, el 50% del mercado disponible de la ORP que está cubierto por Alemania y EEUU. Este último importa 261,3tn desde España (4%) y la India (36%), países que usan

tecnologías competitivas de producción más limpia, como la extracción por fluidos supercr ticos²⁹.

Con el fin de avanzar en una propuesta competitiva en el sector de las oleorresinas, especialmente para Colombia y Latinoamérica, se llevó a cabo la extracción de la oleorresina de páprika obtenida a escala semi-industrial bajo las condiciones optimizadas recomendadas por Gil, et al., en 2010¹³, y que presentan unas condiciones de rendimiento y color en la unidad de referencia Grados ASTA, con valores comercialmente competitivos, como se muestran en la tabla 3.

Como se puede observar el porcentaje de rendimiento se encuentra dentro de los datos reportados en estudios anteriores y se acercan a los obtenidos por métodos convencionales que oscilan entre 12 y 16%³².

Con respeto a los Grados ASTA, los valores obtenidos se encuentran por debajo de los reportados por estudios anteriores y la ORP comercial de referencia, aunque en términos de calidad es importante verificar la presencia de los compuestos bioactivos, como el β -caroteno, el cual no se esterifica durante la maduración y al obtenerse la ORP por FSC, es posible conservar su propiedad antioxidante³³.

En el gráfico 2, se muestran los cromatogramas de la ORP comparada con pimentón.

Tabla 3. Valores obtenidos experimentalmente a escala semi-industrial del rendimiento y Grados ASTA de la ORP extraída por FSC, comparada con valores comerciales y reportados previamente

Ítem evaluado	Oleorresina extraída por FSC	Patrón de referencia*	Estudios realizados
Rendimiento	14.6±(0,9)	No reportado	11,5% (Daood y otros, 2002) 16% Yao y otros(1994) ³⁰
Grados ASTA	716,3±(5)	1890,5±(4,6)	Entre 1463±(30) y 3621±(52) ³¹

*Oleorresina comercial extraída por métodos convencionales

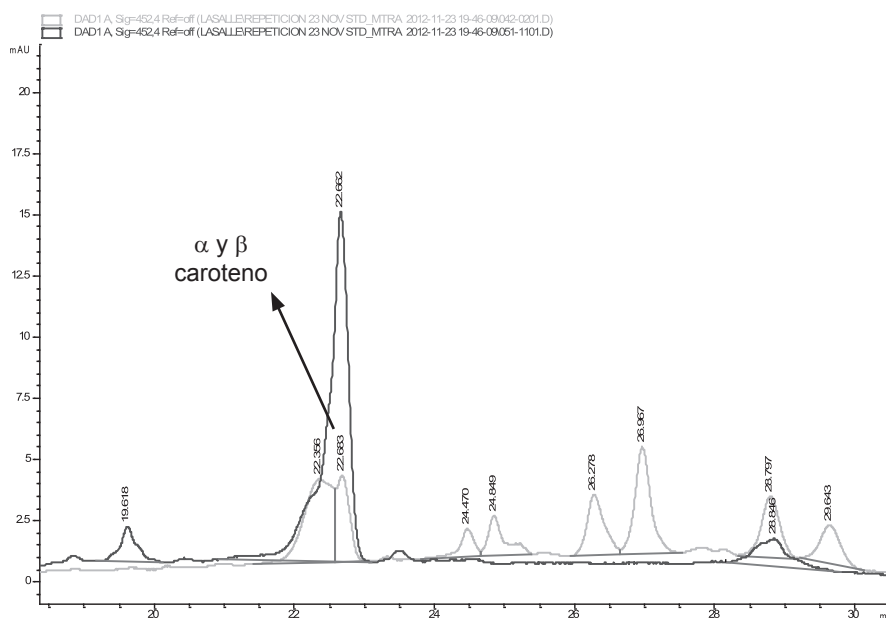


Gráfico 2. Cromatograma de la ORP comparada con pimentón

Fuente: Elaboración propia

Como se muestra en el gráfico 2, la presencia de α y β carotenos es superior a la comparada con el pimentón. La presencia de β -carotenos cobró importancia ya que está relacionada con la capacidad antioxidante, en este caso de la oleorresina, como lo reportan Gil y otros en 2010¹³ (ABTS: 4500 ± 2100 expresado en μmol trolox/100g extracto de oleorresina), bajo condiciones similares.

Oleorresina microencapsulada

La conservación del color y de la presencia de carotenos en la ORP, en el tiempo puede verse afectada por factores externos como la presencia de oxígeno, la humedad alta, el contacto

con materiales metálicos o la incorporación de la oleorresina como aditivo en matrices alimenticias más complejas; por consiguiente, la microencapsulación es una opción para extender la vida útil, en términos de color³⁴.

Por lo anterior, la ORP obtenida por FSC fue microencapsulada secada por aspersión, como una opción industrial para prolongar la vida útil y mejorar la incorporación del colorante a un producto alimenticio.

La efectividad de la microencapsulación de la ORP se verificó por medio del porcentaje de la ORP atrapada (86%) con respecto a la que se cuantificó en la capa externa del material

encapsulante (12%). Estos valores fueron evaluados en el tiempo en condiciones de humedad y temperatura del trópico. En el gráfico 3 se muestra la representación de los datos obtenidos por el seguimiento del porcentaje de efectividad de la microencapsulación.

En la gráfica 3 se puede observar que la oleoresina microencapsulada es más estable que

la oleoresina sin encapsular, siguiendo una cinética de primer orden³⁵.

En la foto 1 se muestra lo obtenido por medio del microscopio electrónico de barrido. Se corroboró la microencapsulación de la ORP con un tamaño de partícula óptimo para mejorar la solubilidad del colorante en matrices complejas.

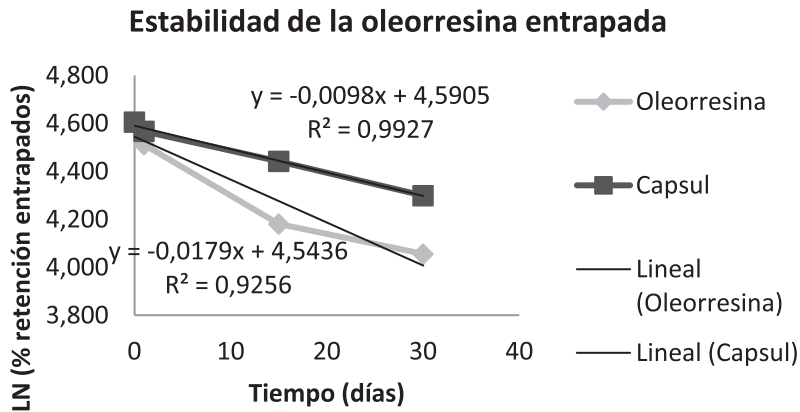


Gráfico 3. Cromatograma de la región de los carotenos (15-30 min) comparando pimentón (trazo azul) y páprika (trazo rojo)

Fuente: Elaboración propia

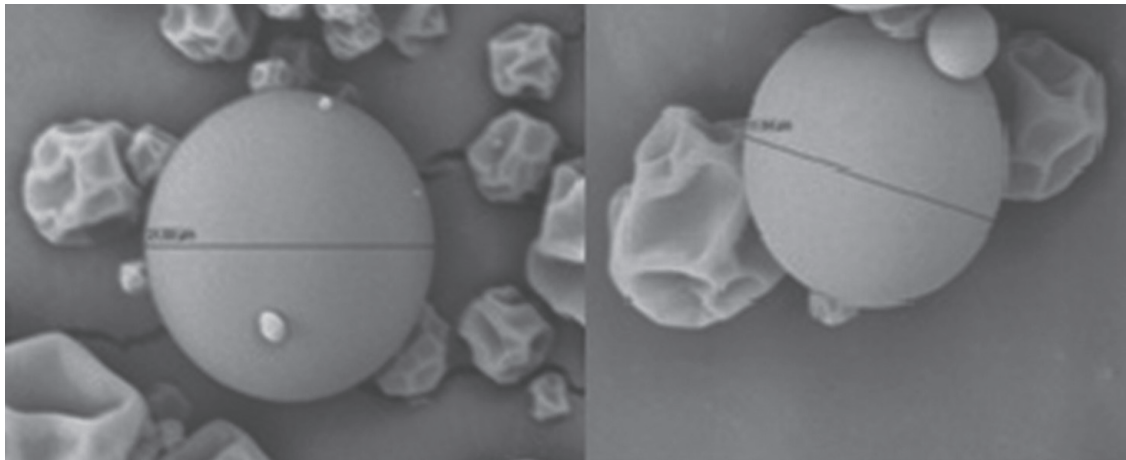


Foto 1. Microscopia de barrido electrónico de la ORP microencapsulada

Fuente: elaboración propia

A partir de la verificación de la microencapsulación de la ORP, en una relación 1:10 (oleoresina:encapsulante), como alternativa para mejorar su estabilidad, se continuó con

la aplicación en un embutido cárnico para evaluar su capacidad colorante y compararla con la oleoresina obtenida por FSC obtenida a escala semi-industrial.

Aplicación de la ORP a un producto cárnico embutido

La oleoresina de páprika es aplicada a diferentes productos alimenticios, como salsas, queso cheddar, snacks y productos cárnicos embutidos; en la formulaci3n de estos últimos es donde más se aplica la ORP para aportar color; por esta raz3n se escogi3 el chorizo, el cual es un embutido originario y tpico español

extendido a latinoamérica, que se elabora con carne picada y grasa de cerdo³⁶.

Por lo anterior, el color fue evaluado cualitativa y cuantitativamente en el producto cárnico embutido. A continuaci3n se muestran las fotografías obtenidas de la superficie y del interior del producto cárnico embutido (chorizo), preparado con la oleoresina de páprika obtenida por FSC (O1, O2 y O3), la ORP microencapsulada (M1, M2 y M3) y del patr3n de referencia (ORP comercial).



Foto 2. Color de la superficie e interior de un producto cárnico embutido preparado con oleoresina de páprika extraída por FSC (O1, O2, O3) y ORP microencapsulada (M1, M2, M3) y con oleoresina comercial (patr3n)

Fuente: elaboraci3n propia

La relación de la apariencia del color de los chorizos fue evaluada por las variables L*, a*, b*, C, h, para determinar el ΔE con respecto al patrón (ORP comercial). Lo valores del ΔE se muestran en la tabla 4.

De los resultados se observa un mayor valor de la coordenada de color a*, correspondiente a la cromaticidad roja en las muestras de la oleorresina extraída por FSC que en la ORP microencapsulada, pero ambas con un valor menor que el patrón.

Con relación a la luminosidad (L*), el patrón presentó valores menores de acuerdo con los chorizos codificados como 01, 02 y 03.

La diferencia entre la capacidad de proporcionar color de la ORP extraída por FSC y microencapsulada se evaluó estadísticamente por un análisis de varianza (tabla 5), en el que se puede observar que las diferencias entre los dos factores evaluados (DE y el lugar donde fue evaluado el color en el producto cárnico) y sus interacciones son significativas ($p < 0,05$).

En el gráfico 4 se puede observar cómo el tratamiento que presenta el menor valor en ΔE es la oleorresina 3 en el interior; respecto a la superficie, se puede observar cómo los tratamientos oleorresina 1, 2 y 3 no presentan diferencias significativas y son los que reportan el menor valor.

Tabla 4. ΔE en función de las variables de color L*, a*, b* evaluados para la O1, O2, O3, M1, M2, M3 con respecto a la oleorresina comercial

Muestras	Coordenadas de color superficie				Coordenadas de color interior			
	L*	a*	b*	ΔE	L*	a*	b*	ΔE
Patrón (oleorresina comercial)	60,63	34,29	43,49		58,09	31,1	36,85	
	61,92	30,55	38,15		56,89	31,48	37,18	
	60,16	34,2	44,15		59,76	30,79	37,17	
	62,88	30,73	37,54		59,94	31,49	37,42	
ORP Microencapsulada 1 (M1)	70,92	16,13	26,04	11,30	64,32	21,88	31,09	6,58
	69,62	16,73	26,78	10,35	64,5	22,61	31,93	6,45
	70,8	17,54	27,68	11,97	64,04	22,59	30,65	6,15
	69,82	17,55	26,32	10,19	65,27	21,99	31,78	7,16
ORP Microencapsulada 2 (M2)	70,92	16,13	26,04	11,30	64,32	21,88	32,09	6,62
	69,92	16,73	26,78	10,50	64,5	22,61	31,93	6,45
	70,8	17,54	27,68	11,97	64,04	22,59	30,65	6,15
	69,82	17,55	26,32	10,19	65,27	21,99	31,78	7,16
ORP Microencapsulada 3 (M3)	67,61	23,77	31,67	6,63	62,25	26,47	36,17	3,98
	67,11	23,68	32,27	6,29	62,72	26,55	36,19	4,28
	69,18	22,46	32,02	7,90	63,39	27,37	35,8	4,49
	66,62	23,62	32,24	6,02	63,02	25,91	34,74	4,54
Oleorresina 1 (O1)	66,07	27,07	36,94	4,57	61,68	25,87	27,77	4,72
	65,58	26,99	37,53	4,27	62,49	27,29	31,4	4,08
	65,44	28,38	39,78	3,95	62,5	27,31	30,77	4,23
	66,21	27,78	40,21	4,73	61,56	27,2	28,84	4,29
Oleorresina 2 (O2)	67,68	25,9	34,31	6,01	62,58	25,9	31,6	4,27
	62,15	29,96	44,07	2,71	52,48	27,27	32,03	6,19
	66,07	27,07	36,94	4,57	64,1	28,23	32,92	4,99
	66,22	25,71	33,43	5,17	64,38	27,57	33,34	5,22
Oleorresina 3 (O3)	67,48	25,13	34,55	6,03	61,88	28,52	33,71	3,15
	67,36	26,54	36,18	5,59	61,22	27,71	34,1	2,75
	63,59	28,11	34,78	3,00	62,16	27,87	34,75	3,39
	66,43	28,53	39,2	4,57	62,83	28,68	34,36	3,82

Tabla 5. Análisis de varianza

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Parte (superficie o interior)	49,3051	1	49,3051	81,43	0,0000
Tratamiento	187,796	5	37,5593	62,03	0,0000
Parte*Tratamiento	44,0239	5	8,80478	14,54	0,0000
Residuo	21,7981	36	0,605504		
Total (corregido)	302,924	47			

$r^2 = 92,80\%$

Fuente: elaboración propia

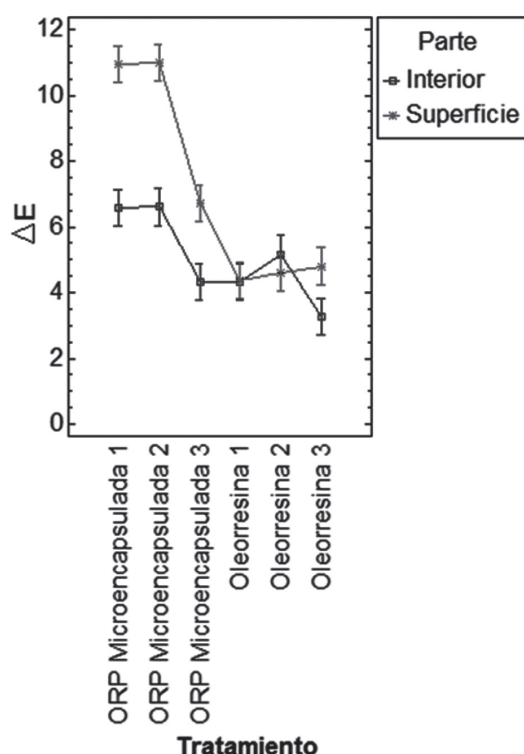


Gráfico 4. ΔE vs Tratamiento, Intervalos LSD

Fuente: elaboración propia

Conclusiones

La oleorresina de paprika extraída por fluidos supercrıticos a escala semi-industrial presento, por un lado, un rendimiento dentro del rango reportado por estudios previos a escala piloto o por metodos convencionales; por otro lado, los grados ASTA estuvieron por debajo de los evaluados para una ORP comercial extraída por metodos convencionales, pero se identi-

co la presencia de a, b - carotenos como valor agregado.

La evaluacion del color en un producto carnico embutido como el chorizo en presencia de oleorresina extraída por fluidos supercrıticos tuvo una menor diferencia con respecto a color proporcionado por la oleorresina comercial, tanto en la superficie como en el interior, siendo la oleorresina O3 la de mejor efecto en el

interior. El color proporcionado por la oleoresina microencapsulada en el chorizo se aleja de los valores de referencia, pero presentó una mayor estabilidad en condiciones de humedad y temperatura extrema comparada con la ORP extraída por FSC. Por lo anterior, se recomienda para futuras aplicaciones aumentar la dosificación de la ORP microencapsulada para alcanzar el nivel empleado comercialmente en productos cárnicos embutidos y aprovechar la ventaja de este como colorante natural y con presencia de compuestos bioactivos.

Referencias bibliográficas

1. STAHL, W. y SIES, H. Antioxidant activity of carotenoids. *En: Molecular Aspects of Medicine*. 2003. Vol. 24, p. 345–351.
2. SOUTHON, S. & FAULKES, R. Predicting the bioavailability of antioxidants in food: the case of carotenoids. *En: Antioxidants in food*. Norwich, UK: Woodhead Publishing Ltda, 2001.
3. FAULKES, R. M.; *et al.* Absorption of all trans and 9-cis b-carotene in human ileostomy volunteers. *En: Clin. Sci.* 1997. Vol. 93, p. 585–591.
4. OLSON, J. A. Absorption, transport and metabolism of carotenoids in humans. *En: Pure and Applied Chemistry Biochemistry and Biophysics*. 1994. Vol. 301, p. 217-223.
5. MÍNGUEZ-MOSQUERA, M. I.; *et al.* Color Quality in Paprika. *En: J. Agric. Food Chem.* 1992. Vol. 40, p. 2384-2388.
6. MÍNGUEZ-MOSQUERA, M. I y HORNERO-MÉNDEZ, D. Separation and Quantification of the Carotenoid Pigments in Red Peppers (*Capsicum annum L.*), Paprika, and Oleoresin by Reversed-Phase HPLC. *En: J. Agric. Food Chem.* 1993. Vol. 41, p. 1616-1620.
7. RUTKOWSKA, J. & STOLYHWO, A. Application of carbon dioxide in subcritical state (LCO₂) for extraction/fractionation of carotenoids from red paprika. *En: Food Chemistry*. 2009, p. 745–752.
8. BRITTON, G. Carotenoids. *En: Methods in Plant Biochemistry*. 1991. Vol. 7, p. 473–518.
9. NAGY, V.; *et al.* Carotenoid Isolated from the Fruits of Yellow Paprika (*Capsicum annum var. lycopersicum flavum*). *En: Tetrahedron Letters*. 2007. Vol. 17, p. 9012-9014.
10. GIRALDO ROJAS, Francisco; *et al.* Comparación de métodos de extracción de oleoresina de paprika (*Capsicum annum L.*) convencionales con una tecnología amigable al medio ambiente. *En: Produccion + Limpia*. 2009. Vol. 1, p. 17-26.
11. JAREN-GALAN, M.; PEREZ-GALVEZ, A & MINGUEZ-MOSQUERA, M. I. Prediction of decoloration in paprika oleoresins. Application to studies of stability in thermodynamically compensated systems. *En: J. Agric. Food Chem.* 1999. Vol. 47, p. 945-951.
12. GNAYFEED, M. H.; *et al.* Supercritical CO₂ and subcritical propane extraction of pungent paprika and quantification of carotenoids, tocopherols, and capsaicinoids. *En: Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2001. Vol. 49, p. 2761-2766.
13. GIL, Maritza; *et al.* Obtencion de la oleoresina de paprika por medio de tecnologías emergentes en Colombia. Un ejemplo de la innovacion de producto. *En: Perspectivas y avances de investigacion*. Caldas: Artes y Letras, 2010, p. 417 – 449. (Serie Lasallista de Investigacion y Ciencia)
14. YANEZ, J.; *et al.* Aplicaciones biotecnologicas de la microencapsulacion. *En: Avance y Perspectiva*. 2002, p. 314-319.
15. DESAI, K. & PARK, H. Recent development in microencapsulation of foods ingredients. *En: Drying Technology*. 2005, p. 1361–1394.
16. RODRIGUEZ-HERNANDEZ, G.; *et al.* Spray-drying of cactus pear juice (*Opuntia streptacantha*): Effect on the physicochemical properties of powder and reconstituted product. *En: Drying Technology*. 2005, p. 955–973.
17. AOAC. official Methods of Analysis of AOAC International. 18th Ed. Association of Official Analytical Chemists. Gaithersburg: AOAC, 2007.
18. GIL, Maritza; *et al.* Obtencion de la oleoresina de paprika por medio de tecnologías emergentes en Colombia. Un ejemplo de la innovacion de producto. *Op cit.*, p. 417 – 449.
19. MINGUEZ-MOSQUERA, María Isabel y PEREZ-GALVEZ, P. Color Quality in Paprika Oleoresins. *En: J. Agric. Food Chem.* 1998. Vol. 46, p. 5124-5127.
20. COLLERA-ZUNIGA, Ofelia; *et al.* Comparative study of carotenoid composition in three mexican varieties of *Capsicum annum L.* *En: Food Chemistry*. 2005. Vol. 90, p. 109–114.
21. AOAC. Official Method 970.64. Carotenes and Xanthophylls in Dried Plant Materials and Mixed Feeds. *En: AOAC Intl, official Methods of Analysis of AOAC International*. 18th Ed. Association of Official Analytical Chemists. Gaithersburg: AOAC, 2007.

22. FAGEN, H. J.; KOLEN, E. P. & HUSSONG, R. V. Spectrophotometer method for determining piperine in oleoresin of black pepper. En: Journal of Agricultural & Food Chemistry. 1955. Vol. 3, p. 860-862.
23. GOLDSTEIN, J. Microscopía electrónica de barrido y microanálisis de rayos X. Academic Kluwer / Publishers Pleno (2003).
24. HUI, Y. H. Ciencia y tecnología de carnes. México: Limusa, 2006. 634 p.
25. LINDBLOOM, Bruce Justin. Revised Mon., 2 Feb. 2009 18:31:41 UTC URL: <http://www.brucelindbloom.com> [Consultado 01/12/2012].
26. LEWIS, G. A. y MATHIEU, D. Pharmaceutical Experimental Design. New York: Marcel Dekker Inc., 1999, p. 498.
27. COLOMBIA. MINISTERIO DE SALUD. Resolución 4241 de 1991, en la cual se definen las características de las especias o condimentos vegetales y se dictan normas sanitarias y de calidad de estos productos y de sus mezclas. Bogotá: El Ministerio, 1991.
28. GIRALDO ROJAS, Francisco; *et al.* Comparación de métodos de extracción de oleoresina de páprika (*Capsicum annuum L.*) convencionales con una tecnología amigable al medio ambiente. Op cit., p. 17-26.
29. ESQUIVEL, L. El consumo de chile crece en el mundo a pasos acelerados. Descubre cómo aprovechar esta expansión y emprender en un negocio a escala global. 2011. <http://www.soyentrepreneur.com/home/index.php?p=nota&idNota=4832> [Consultado 18.04.2011].
30. DAOOD, H. G.; *et al.* Extraction of pungent spice paprika by supercritical carbon dioxide and subcritical propane. En: Journal of Supercritical Fluids. 2002. Vol. 23, p. 143–152.
31. MÍNGUEZ-MOSQUERA, M. I.; JARN-GALN, M y GARRIDO-FERNÁNDEZ, J. Color Quality in Paprika. Op cit., p. 2384-2388.
32. GIRALDO ROJAS, Francisco; *et al.* Comparación de métodos de extracción de oleoresina de páprika (*Capsicum annuum L.*) convencionales con una tecnología amigable al medio ambiente. Op cit., p. 17-26.
33. GIL, Maritza; *et al.* Obtención de la oleoresina de páprika por medio de tecnologías emergentes en Colombia. Un ejemplo de la innovación de producto. Op. cit., p. 417 – 449.
34. REINECCIUS, G. A. Spray drying of food flavors. En: Risch SJ, Reineccius GA, editors. Flavor encapsulation. Washington: Amer. Chem. Soc., 1988. p. 55-66.
35. SHAIKH, J.; BHOSALE, R., y SINGHAL, S. Microencapsulation of black pepper oleoresin. En: Food Chemistry. 2006, p. 105-110.
36. HUI, Y. H. Ciencia y tecnología de carnes. Op cit., 634 p.