



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

USO DE ALGA (*Chlorella* spp.) COMO COLORANTE NATURAL EN  
CONFITERÍA.

AUTOR

Megan Justine Barros Chiriboga

AÑO

2020



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

USO DE ALGA (*Chlorella spp.*) COMO COLORANTE NATURAL EN  
CONFITERÍA.

“Trabajo de titulación presentado en conformidad con los requisitos  
establecidos para optar por el título de Ingeniero Agroindustrial y de Alimentos”

Profesor guía

M.Sc. Evelin Alexandra Tamayo Gutiérrez

Autor

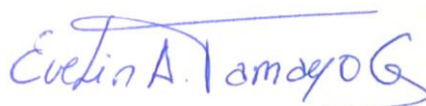
Megan Justine Barros Chiriboga

Año

2020

## DECLARACIÓN PROFESOR GUÍA

"Declaro haber dirigido el trabajo, USO DE ALGA (*Chlorella spp.*) COMO COLORANTE NATURAL EN CONFITERÍA, a través de reuniones periódicas con el estudiante Megan Justine Barros Chiriboga, en el semestre 202020, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación"



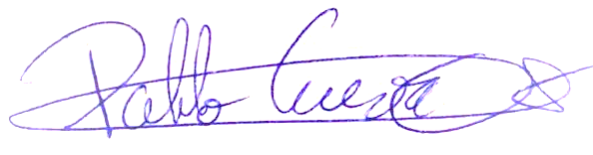
---

Evelin Alexandra Tamayo Gutiérrez

C.I 1713985198

## DECLARACIÓN PROFESOR CORRECTOR

"Declaro haber revisado este trabajo, USO DE ALGA (*Chlorella spp.*) COMO COLORANTE NATURAL EN CONFITERÍA, del estudiante Megan Justine Barros Chiriboga, en el semestre 202020, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación".



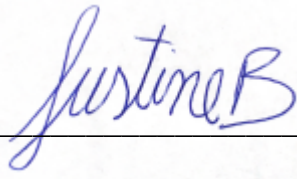
---

Pablo Esteban Cueva Costales

C.I 1716331069

## DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

“Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes.”

A handwritten signature in blue ink that reads "Justine B." is positioned above a horizontal line. The signature is written in a cursive style.

Megan Justine Barros Chiriboga

C.I 171868019

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi abuelita Carmen Calderón por apoyarme en cada etapa de mi vida y hacer posible la culminación de mi carrera.

A mis profesores que me impartieron sus conocimientos y siempre estuvieron dispuestos ayudarme y aconsejarme de la mejor manera.

A los ingenieros Ortiz y Muñoz que me dieron la oportunidad de poder desarrollar mi investigación.

## **DEDICATORIA**

A mi familia, por el esfuerzo realizado durante estos 5 años. A mis padres por apoyar cada una de mis decisiones.

A mi abuelita Carmen Calderón por demostrarme que siempre el esfuerzo tiene su recompensa y por alentarme a seguir estudiando y formándome como profesional día a día.

A Diego Pasquel por estar junto a mí siempre, por ser incondicional y por siempre estar dispuesto ayudarme.

## RESUMEN

La tendencia de consumo de alimentos procesados ha cambiado, los consumidores buscan alimentos de etiqueta limpia, los cuales contengan menos aditivos sintéticos. Los colorantes artificiales en la industria alimentaria son utilizados por sus características de solubilidad, resistencia y bajo costo; sin embargo, estos colorantes han sido estudiados por sus efectos adversos, por ello muchas empresas están buscando alternativas para reformular sus productos. Tomando en cuenta los requerimientos del consumidor y la biodiversidad que posee Ecuador, se utilizó *Chlorella* spp. como colorante natural en confitería. *Chlorella* es una microalga considerada beneficiosa por sus propiedades nutricionales, además esta alga posee hasta cuatro veces más clorofila (en comparación con espinaca, espirulina), y un 60% de su composición total en proteína. El desarrollo de la investigación tuvo tres etapas, las cuales fueron desde la propagación del alga, adición de *Chlorella* en la gomita y análisis de aceptabilidad del producto final. El proceso metodológico para la primera etapa fue realizada mediante datos bibliográficos sobre procesos de cultivo y cosecha de *Chlorella*, mediante técnicas de propagación estandarizadas obteniendo rendimientos de 0.43g/L. La segunda etapa, fue tomar una formulación de gomitas y sustituir colorante sintético por alga seca, en este caso por el 1% del total de la formulación. Finalmente, se realizaron análisis de aceptabilidad (testigo, gomita comercial y gomita con colorante a base de *Chlorella*), mediante encuestas a 10 personas de diferentes edades. Se obtuvo como resultado que la adición del 1% de microalga a la formulación de gomitas no es una cantidad idónea ya que el color verde fue muy intenso. Sin embargo, la gomita con colorante natural fue considerada como la que poseía mejor textura.

Palabras Clave: *Chlorella* spp, colorante natural, aceptabilidad, superalimento.



## ABSTRACT

The trend of consumption of processed foods has changed, consumers are looking for clean label foods, which contain fewer synthetic additives. Artificial colorants in the food industry are used for their characteristics of solubility, resistance and low cost; however, these colorants have been studied for their adverse effects, so many companies are looking for alternatives to reformulate their products. Taking into account consumer requirements and the biodiversity that Ecuador has, *Chlorella* spp. Has been used as a natural colorant in confectionery. *Chlorella* is a microalgae considered beneficial for its nutritional properties, in addition this algae has up to four times more chlorophyll (compared to spinach and spirulina), 60% of its total composition is in protein. The development of the research had three stages, which were from the propagation of the algae, addition of *Chlorella* in the gummy and analysis of acceptability of the final product. The methodological process for the first stage was carried out using bibliographic data on the cultivation and harvesting processes of *Chlorella*, using standardized propagation techniques, obtaining yields of 0,43 g/ L. The second stage was to take a formulation of gummies and substitute synthetic dye for dry seaweed, in this case for 1% of the total formulation. Finally, acceptability analyzes were carried out (control, commercial gummy and gummy with *Chlorella*-based dye), through surveys of 10 people of different ages. It was obtained as a result that the addition of 1% of microalgae to the gummy formulation is not an ideal quantity since the green color was very intense. However, the gummy with natural coloring was considered the one with the best texture.

Key Words: *Chlorella* spp, natural coloring, acceptability, superfood.

# ÍNDICE

INTRODUCCIÓN .....	1
OBJETIVOS .....	2
OBJETIVO GENERAL.....	2
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
1. MARCO TEÓRICO.....	3
1.1.  Chlorella .....	3
1.1.1.  Características del cultivo .....	4
1.1.2.  Determinación de biomasa .....	6
1.1.3.  Aplicación de microalga.....	6
1.2.  Colorantes .....	7
1.2.1.  Colorantes Sintéticos.....	7
1.2.2.  Colorantes Naturales .....	8
1.3.  Confitería.....	9
1.3.1.  Gomitas .....	9
1.4.  Análisis sensorial.....	10
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	10
2.1.  Materiales.....	11
2.1.1.  Material de laboratorio para preparación de cultivo de Chlorella..	11
2.1.2.  Material de laboratorio para conteo- densidad celular .....	11
2.1.3.  Material de laboratorio para cosecha de microalga .....	12
2.1.4.  Material de laboratorio para preparación de gomita .....	12
2.1.5.  Equipos.....	12
2.1.6.  Material Biológico .....	13
2.1.7.  Material de oficina.....	13
2.2.  Métodos.....	13
2.2.1.  Propagación y cosecha de <i>Chlorella spp.</i> .....	13
2.2.2.  Aplicación del alga en gomitas .....	16
2.2.3.  Análisis de aceptabilidad .....	18
2.3.  Diseño estadístico .....	18

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	19
3.1. Propagación y Cosecha de microalgas.....	19
3.1.1. Análisis del rendimiento por litro.....	20
3.2. Aplicación del alga en gomitas .....	21
3.3. Análisis de Aceptabilidad.....	22
3.3.1. Color .....	23
3.3.2. Aroma.....	24
3.3.3. Sabor.....	24
3.3.4. Textura .....	25
3.3.5. Sabor residual.....	26
4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	27
4.1. Conclusiones.....	27
4.2. Recomendaciones.....	28
REFERENCIAS.....	29
ANEXOS .....	32

## INTRODUCCIÓN

En el Ecuador, existen cerca de 53 empresas dedicadas a la realización de confites que mantienen una demanda sostenida durante todo el año. La comercialización de productos dulces produce ventas de \$227.010.330,92 por año entre pequeñas, medianas y grandes empresas; siendo Arcor, Confiteca e Incapab las principales empresas confiteras (CFN, 2017). Finalmente, la producción nacional provee gran porcentaje de la demanda, debido a que las exportaciones disminuyeron por la sobretasa de 45% registrada en el 2015.

Los productos de confitería son alimentos a base de azúcar y/o chocolate, como materias primas principales, a los que se adicionan: gomas naturales, gelatinas, pectinas, agar-agar, glucosa, almidón, azúcares y otras sustancias o aditivos alimentarios permitidos (NTE INEN 2217, 2012). Los aditivos alimentarios pueden ser: colorantes y saborizantes artificiales, en la mayoría de los productos industriales.

Se han realizado varias investigaciones científicas en las que se extraen colorantes naturales de algas para su aplicación en alimentos. Según publicaciones científicas, se están realizando pruebas de efectividad sobre la tonalidad que aportan las algas como colorantes, además de su estabilidad en el tiempo y la capacidad de homogeneización que poseen las mismas, al tener contacto con otras sustancias. Estas pruebas están siendo realizadas en comparación con un alimento que ha sido añadido colorantes artificiales. (Bermejo, 2012)

Los colorantes artificiales son considerados alergénicos, por esta razón se ha considerado buscar una alternativa a estos aditivos alimentarios. El color en los alimentos es un elemento que influye en la aceptación del producto por parte del consumidor, sin embargo, los colorantes artificiales pueden contener sustancias tóxicas en su composición, a estos colorantes se les atribuyen problemas como hiperactividad, alergias, déficit de atención, alteraciones nerviosas y desórdenes de la vista (Morales, 2020). Los productos alimenticios en el mercado que

contienen colorantes sintéticos son dirigidos para niños; esto ha causado preocupación precautelar la salud de los consumidores.

*Chlorella* es un microalga la cual posee un gran porcentaje de nutrientes en su composición, ha sido estudiada por su cantidad de proteína y clorofila, se le ha atribuido beneficios sobre la salud, las cuales son: capacidad antioxidante, regeneración celular, entre otras (ALYS, 2012). Utilizar algas como aditivos alimentarios tiene beneficios ya que su sistema de cultivo es continuo y no se requieren de factores externos para su crecimiento, se puede propagar una microalga bajo sistemas controlados, cerrados o abiertos los cuales brindan, luz, aireación y nutrientes y mantener una producción constante durante todo el año, manteniendo control sobre pH, densidad celular, la inocuidad y asepsia en el proceso son factores fundamentales para obtener buenos resultados.

Los colorantes naturales en la industria confitera no son muy utilizados debido a sus costos o facilidad de obtención del mismo, el proyecto pretende evaluar la aplicación de colorantes naturales de microalgas en alimentos como sustitutos a los aditivos sintéticos mencionados anteriormente. Los consumidores se están preocupando por su salud y por ende la composición de los alimentos que el mercado les ofrece, es por esto que al utilizar aditivos alimentarios de origen natural se pretende brindar alternativas alimenticias y sustituir fuentes de alérgenos alimentarios en productos de confitería; en este caso de gomitas, utilizando microalgas (*Chlorella spp*).

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

- Utilizar alga (*Chlorella spp*) como colorante natural en confitería.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Propagar *Chlorella spp* mediante procedimientos estandarizados.
- Elaborar gomitas con adicción de *Chlorella spp*.
- Evaluar las características organolépticas de la gomita.

## 1. MARCO TEÓRICO

### 1.1. Chlorella

La *Chlorella spp.* es una microalga verde, unicelular, que posee un alto valor nutritivo. En su composición sobresalen las proteínas que representan el 60%, minerales (hierro, calcio, fósforo, zinc, magnesio), vitaminas del complejo B, vitaminas A, E, K y D, entre otras. Chlorella es considerado un superalimento ya que cada uno de sus compuestos producen efectos beneficios en la salud humana, tales como: mejora el sistema inmunológico, destruye radicales libres, elimina toxinas y estimula el crecimiento celular (Ascaso, 2019).



Figura 1. Microalga Chlorella.

Chlorella es considerada un complemento en la dieta diaria, hoy en día se comercializa al alga en forma de polvo y pastillas, las cuales pueden ser agregadas de manera sencilla en diversos alimentos como: jugos, ensaladas, aderezos, entre otros (Dominguez, 2019). La microalga posee un complejo llamado el Factor de Crecimiento de Chlorella, cuyos componentes actúan en la reparación, renovación y mantenimiento de órganos humanos, además es capaz de reforzar el sistema inmune del cuerpo (ALYS, 2012)

Chlorella posee hasta cuatro veces más clorofila que la espinaca, espirulina y ortiga. La clorofila es considerada el pigmento de las plantas, debido a esta cualidad se ha pretendido aprovechar su capacidad de tinción en diferentes aplicaciones (Suárez-Salazar et al., 2016). La clorofila se puede extraer mediante acetona, etanol y metanol para ser utilizado como colorante alimentario, cuya nomenclatura es E-140 (Calvo, 2017).

### **1.1.1. Características del cultivo**

Las algas tienen la capacidad de generar gran cantidad de biomasa en cortos periodos de tiempo, se necesitan de características específicas para su desarrollo, entre las cuales se detallan:

- ✓ Nutrientes
- ✓ Luz
- ✓ Aireación

Los principales nutrientes para el desarrollo de microalgas, son: carbono, nitrógeno y fósforo; cuyas funciones están relacionadas con la producción lipídica, desarrollo del alga, transferencia de energía y formación de ácidos nucleicos, estos nutrientes depende de la luz, pH y la cantidad de oxígeno disuelto dentro del sistema de cultivo para un correcto crecimiento de microalgas (Hernández-Pérez & Labbé, 2014)

### 1.1.1.1. Sistemas de cultivo

Existen sistemas de cultivo abiertos y cerrados, los sistemas de cultivo abiertos dependen factores ambientales, mientras que en los sistemas de cultivo cerrados se logran obtener mejores resultados debido a que el microorganismo se encuentra aislado y bajo condiciones específicas del mismo, para elegir un sistema de cultivo óptimo se debe tomar en cuenta la finalidad que va a tener el alga. (Hernández, 2014)



*Figura 2.* Sistema de cultivo cerrado.

Los sistemas de cultivo abiertos son aquellos que se encuentran bajo superficies naturales. Estos son utilizados comúnmente en la producción de microalgas a nivel comercial, ya que el sistema permite obtener luz y CO<sub>2</sub> del ambiente. Las ventajas de estos sistemas son sus bajos costos y facilidad de construcción. Sin embargo, el rendimiento es más bajo que en sistemas de cultivo cerrados y el microalgas se encuentra expuesta a condiciones ambientales (González Céspedes, 2016).

Los sistemas de cultivo cerrados son aquellos que se producen bajo ambientes controlados. Los principales beneficios de estos sistemas son su mayor productividad e incremento de la densidad celular en comparación son sistemas abiertos. Los sistemas de cultivos cerrados tienen mayor rentabilidad, pero estos sistemas son poco implementados debido a sus altos costes (González Céspedes, 2016).



### **1.1.2. Determinación de biomasa**

El conteo de la densidad celular en el cultivo tiene la finalidad de cuantificar el crecimiento de una población, en la cual las células crecen y posteriormente se dividen sucesivamente, aumento la biomasa. Se puede realizar el conteo mediante la cámara de Neubauer, en la cual se colocan 2 gotas de la muestra líquida y se la observa en el microscopio para cuantificar las microalgas. También, se pueden tomar muestras mediante el espectrofotómetro para generar una curva de crecimiento del alga. (Mariano Astacondor et al., 2017)

### **1.1.3. Aplicación de microalga**

#### **1.1.3.1. Microalgas en alimentos**

Las microalgas están siendo utilizadas por sus propiedades benéficas para mejorar la salud humana y brindar alternativas alimentarias en el mercado. En alimentos se han aplicado microalgas en: panes libres de gluten enriquecidos con espirulina (Silva Figueira et al., 2011), adición de chlorella y espirulina en productos de pasta (Fradique et al., 2010). Empresas españolas como Algenuity están propagando Chlorella con el fin de aplicar su biomasa en varios alimentos (Algenuity, 2019). Las microalgas no son solo utilizadas para consumo humano, se están aplicando como fuente de energía para la generación de biocombustibles. (Carlos-Martin-Sastre, 2014)

Entre las principales características nutricionales de Chlorella podemos encontrar:

- Vitaminas B12, C, entre otras.
- Proteínas (50-60%), aminoácidos esenciales.
- Hierro
- Omega 3
- Fibra

### **1.1.3.2. Clorofila en alimentos**

La clorofila en alimentos es añá brin de aportar con color y sabor a los productos, este compuesto ha sido añadido en caramelos, chicles y galletas (Santiago et al., 2019). En el caso de galletas se ha realizado un producto funcional con clorofila extraída de varias verduras, se evaluaron sus características organolépticas (Vera et al., 2016).

## **1.2. Colorantes**

Los colorantes son sustancias que aportan una tonalidad a tejidos o alimentos con el fin de otorgar características novedosas y atractivas en los mismos. En los alimentos al añadir estos aditivos el producto se vuelve más apetecible y llama la atención del consumidor. Estas sustancias pueden ser: sintéticos o naturales. La aplicación de colorantes en alimentos se originó en épocas del imperio Romano, donde se utilizaban verduras como espinaca, zanahoria y acelga para obtener extractos naturales (Pacheco, 2015).

### **1.2.1. Colorantes Sintéticos**

Los colorantes artificiales se obtienen a partir de síntesis química, estos aditivos son generalmente solubles en agua. En la industria de alimentos, estos aditivos son los más utilizados por su bajo costo y resistencia a los procesos como alta estabilidad y resistencia frente a valores de pH excesivos, tratamientos térmicos y luz. Sin embargo los colorantes sintéticos han ocasionado alteraciones en la salud por sus efectos secundarios y toxicidad que puedan causar. Se muestra en la publicación “un arcoíris de riesgos” publicada por la organización Center of Science in the Public Interest (2010): los efectos perjudiciales que han tenido los

colorantes sintéticos. El color verde 3, ha demostrado aumento significativo en tumores de vejiga y testículos en ratones, el azul 1 no demostró ser tóxico en pruebas con ratones pero se presentaron reacciones de hipersensibilidad, los colorantes amarillo 6 y rojo 40 demostraron reacciones alérgicas y efectos adictivos (Kobylewski & Jacobson, 2010), la legislación establece el porcentaje de uso del aditivo alimentario y la declaración del mismo en el etiquetado. (Rocío, 2013)

### **1.2.2. Colorantes Naturales**

Los colorantes naturales son pigmentos extraídos de plantas, animales o minerales sin necesidad de recurrir a una síntesis química. Estos colorantes han sido utilizados desde la antigüedad, las personas notaban que sus alimentos cambiaban la tonalidad según la materia prima añadida, por ello comenzaron a darle realce a los alimentos y se manifestaba que estos se volvían más atractivos al momento de consumirlos (Pacheco, 2015).

Los colorantes o pigmentos naturales poseen características: antioxidantes, antivirales, antiinflamatorias y antimicrobianas, además de presentar baja toxicidad a comparación de los colorantes sintéticos, sin embargo, sus desventajas son principalmente sus sabores y aromas no deseados. La clorofila es un pigmento fotosintético que forma parte de los colorantes del grupo tetrapirrólicos, debido a que posee un anillo cíclico con un catión de magnesio ligado al centro del mismo (UAMI, 2015). Los colorantes naturales de origen vegetal se dividen en seis grupos, como: carotenoides (amarillo, anaranjado y rojo), clorofílicos (verde), antocianínicos (rojo, anaranjado, azul; los cuales se obtiene de manzanas, uvas y fresas), Flavonoideos (amarillos), betalaínicos (violeta y rojo), tanínicos (gama de colores amarillos y castaños). Los colorantes naturales se clasifican en base a su estructura molecular y sus componentes (Apfel, 2017).

### **1.3. Confitería**

La palabra confitería hace referencia a los lugares donde elaboran y comercializan dulces. Los confites tienen como ingrediente principal el azúcar proveniente de la caña, al principio se conocían métodos de cristalización de azúcar para diversos platos, sin embargo años después se investigaron procedimientos para obtener azúcar en estado sólido, la cual fue combinada con frutos secos y se los consideraba una golosina con propiedades beneficiosas. (Maitezudaire, 2001)

#### **1.3.1. Gomitas**

Las gomitas son productos de confitería que se caracterizan por su textura, se producen a partir de la saturación o pre-saturación de azúcares. Los ingredientes principales de estas preparaciones son: agua, azúcar, jarabe de maíz, color, sabor y ácido. El agua funciona como solvente de los ingredientes, especialmente de la sacarosa. El azúcar es el ingrediente principal aporta con textura y dulzor para la preparación. La glucosa (jarabe de maíz) controla la cristalización, el endurecimiento e interactúa con la gelatina para obtener la característica deseada de cada producto. El almidón es utilizado como agente de moldeo, se lo utiliza por su bajo costo y su capacidad de absorber humedad del producto, de esta forma se produce una capa al exterior del confite. Las proteínas son agentes de textura y mediante el batido confieren aerosidad al producto lo que lo hace ser de textura suave y delicada. La gelatina es un agente que ayuda en el batido y por su característica gelificante sirve para la elaboración de gomitas, brinda textura masticable. Finalmente los acidulantes potencian el sabor que se ha implementado al confite. (Soria, 2015)

#### **1.4. Análisis sensorial**

El análisis sensorial en alimentos se basa en una ciencia de evaluación de los alimentos a través de los sentidos (olfato, gusto, vista, tacto), para identificar aspectos importantes de un producto. A través del análisis se obtienen resultados sobre la aceptación de un producto en el mercado y la valoración sobre las características organolépticas, factores a ser analizados y mejorados para cumplir con los requerimientos del consumidor. Existen cuatro tipos de evaluadores del producto, los cuales son: expertos, entrenados, semientrenados y consumidor. La evaluación se debe realizar en un lugar libre de ruidos y olores extraños, debe poseer iluminación uniforme y las muestras deben estar codificadas y colocadas apropiadamente (Picallo, 2009). La aceptación de un alimento mediante sus características organolépticas define la satisfacción del futuro cliente. (González et al., 2014)

Las pruebas afectivas se basan en cuantificar el grado de aceptación o rechazo de un producto, estas pruebas se las realiza a los consumidores al momento de diseñar un producto ya que ellos son quienes van a adquirir o no el alimento. Es fundamental definir la población objetivo y la escala funcional a utilizar para realizar el análisis de los resultados. (González et al., 2014)

## **2. MATERIALES Y MÉTODOS**

El proyecto de titulación será realizado en dos ubicaciones, la primera parte se desarrollara en el IASA, en el laboratorio de acuicultura donde se obtendrá la materia prima para el desarrollo de la investigación y finalmente se realizara la aplicación del colorante y análisis de las muestras en el laboratorio LQ2 (procesamiento de alimentos secos); perteneciente a la carrera de Ingeniería Agroindustrial y en Alimentos de la Universidad de las Américas, Ecuador.

## **2.1. Materiales**

### **2.1.1. Material de laboratorio para preparación de cultivo de Chlorella**

- Mechero
- Alcohol potable
- Alcohol antiséptico
- Frasco tapa rosca de 1000ml
- Vaso de precipitación de 500 ml
- Recipiente estéril plástico (botellones 6L)
- Tapa de botellón con dos orificios
- Marcador indeleble
- Cinta de autoclavado
- Tijera
- Manguera para pecera
- Luz Blanca (En tira o tubo)
- Fertilizante Nitrofoska
- Agua Purificada
- 1 Piedra de pecera
- Ligas
- Guantes

### **2.1.2. Material de laboratorio para conteo- densidad celular**

- Alcohol antiséptico
- Cubre objetos
- Papel absorbente
- Pipeta desechable
- Vaso desechable 10 onz

### **2.1.3. Material de laboratorio para cosecha de microalga**

- Pipeta desechable
- Cajas Petri de vidrio
- Pliego de papel periódico
- Cinta adhesiva
- Marcador indeleble
- Tubos Falcon
- Mechero
- Fósforos
- Alcohol potable

### **2.1.4. Material de laboratorio para preparación de gomita**

- Glucosa obtenida del maíz
- Gelatina sin sabor
- Agua
- Azúcar
- Moldes de silicona
- Olla
- Termómetro
- Tazones
- Cuchara

### **2.1.5. Equipos**

- Balanza analítica
- Autoclave (Modelo 25x-1)
- Cámara de flujo laminar
- Aireadores de pecera
- Estufa (Medcenter Einrichtungen GmbH)
- Centrifuga (Hermle Labortechnik GmbH)

- Microscopio
- Cámara de Neubauer
- Luz led
- Refrigeradora

#### **2.1.6. Material Biológico**

- Colorante natural de *Chlorella Spp.* Obtenido en el laboratorio de acuicultura de IASA.

#### **2.1.7. Material de oficina**

- Computadora
- Registros organolépticos con características cualitativas
- Cuaderno de formulación
- Esferos
- Impresora
- Hojas de papel bond
- Cámara fotográfica

### **2.2. Métodos**

#### **2.2.1. Propagación y cosecha de *Chlorella spp***

##### **2.2.1.1. Preparación del material y medios de cultivo**

- Pesar 20 g de fertilizante (Nitrofoska).
- En un frasco tapa rosca colocar el fertilizante y aforar a 1L con agua purificada.
- Agitar la mezcla hasta obtener una solución homogénea.
- Colocar los medios en el autoclave (previamente encendido) y esterilizar.



- Retirar el frasco de la olla del autoclave y dejar enfriar, rotular (fecha, tipo de fertilizante, concentración) y refrigerar. (Maldonado et al., 2013)

#### **2.2.1.2. Cultivo de microalgas**

- Tomar un extremo de la manguera para pecera y atar la piedra con ayuda de la liga.
- En la cámara de flujo laminar esterilizar por cinco minutos: los botellones, manguera, piedra de pecera, liga, vaso de precipitación, tapa.
- Etiquetar correctamente el botellón con: fecha de inoculación, iniciales de la persona que inocula, especie de microalga y fertilizante utilizado.
- Encender el mechero, mantenerlo junto a los procesos de inoculación para mantener el área estéril.
- Dispensar 4 L de agua purificada en el botellón con ayuda del vaso de precipitación, añadir el fertilizante (1g/L), finalmente agregar el alga (5 millones - densidad celular inicial)
- Sumergir la manguera atada a la piedra dentro del cultivo, pasar el otro extremo de la manguera por un orificio de la tapa del botellón y cerrarlo.
- Conectar la manguera al motor aireador.
- Mantener el control del desarrollo del cultivo. El alga debe aumentar su densidad celular a 23 millones en un periodo de 23-30 días (Auz, 2019).

#### **2.2.1.3. Conteo de microalga-densidad celular**

- Colocar el cubreobjetos sobre los cuadrantes de la cámara de Neubauer.
- Con ayuda de una pipeta tomar la muestra de microalga.
- Depositar una gota de la muestra en la ranura de la cámara, la muestra se fijará en los cuadrantes.
- Colocar la cámara de Neubauer en el microscopio.
- Realizar el conteo de la densidad celular.

- El conteo se debe realizar en los 4 cuadrantes del extremo (cada cuadrante principal está compuesto por 16 cuadrantes). No se deben contar algas que están sobre cualquier línea de los cuadros.
- Sacar un promedio de los cuatro cuadrantes.
- Utilizar la fórmula:  $DC = N \times 10^4 \times FD$ .

Donde:

N es el promedio del conteo de los cuadrantes.

FD es el factor de dilución.

DC es la Densidad celular.

$10^4$  es una constante

- Comparar la densidad celular inicial con el resultado obtenido. (Auz, 2019)

#### **2.2.1.4. Cosecha de microalga por estufa**

- Utilizar el mechero para mantener un ambiente estéril.
- Colocar 250 ml de muestra del botellón de cultivo en el vaso de precipitación.
- Verter la muestra en frascos de centrifugado.
- Repetir los pasos 2 y 3 hasta llenar los cuatro frascos.
- Prender la centrífuga a 3000 revoluciones por 20 minutos.
- Colocar los frascos en la centrífuga. (El peso debe estar equilibrado).
- Retirar los frascos de la centrífuga y verter el excedente de agua.
- Utilizar una pipeta para recoger el precipitado (microalga).
- Colocar el microalga en las cajas Petri.
- Etiquetar la caja Petri por: fecha y cantidad centrifugada.
- Llevar las cajas Petri a la estufa a 45°C. (sin taparlas).
- Transcurridas de 24-48 horas revisar si la muestra está seca, el tiempo de secado dependerá de la cantidad que se haya llenado la caja petri.
- Raspar la muestra seca con una espátula de laboratorio.
- Colocar en un mortero y triturar hasta obtener un polvo.
- Pesar y guardar en frascos de vidrio ámbar.
- Calcular el rendimiento del alga por litro. (Andrade et al., 2007)

## 2.2.2. Aplicación del alga en gomitas

### 2.2.2.1. Metodología para elaboración de gomitas

- Pesar los ingredientes.
- Hidratar la cantidad de gelatina
- Calentar el agua hasta que entre en ebullición (92°C).
- Adicionar el azúcar dejar que hierva.
- Adicionar la glucosa al jarabe en cocción.
- Homogeneizar la mezcla.
- Cocinar hasta que alcance 110°C.
- Dejar enfriar la solución hasta que llegue a 90°C.
- Añadir la gelatina hidratada cuidando que no se formen grumos.
- Adicionar a esta mezcla color (*chlorella spp*), mezclar y dejar reposar por 5 minutos.
- Depositar sobre moldes para gomitas.
- Reposar por 24 horas.
- Retirar la gomita del molde.
- Aceitar el confite.
- Empacar en fundas de Polifán.

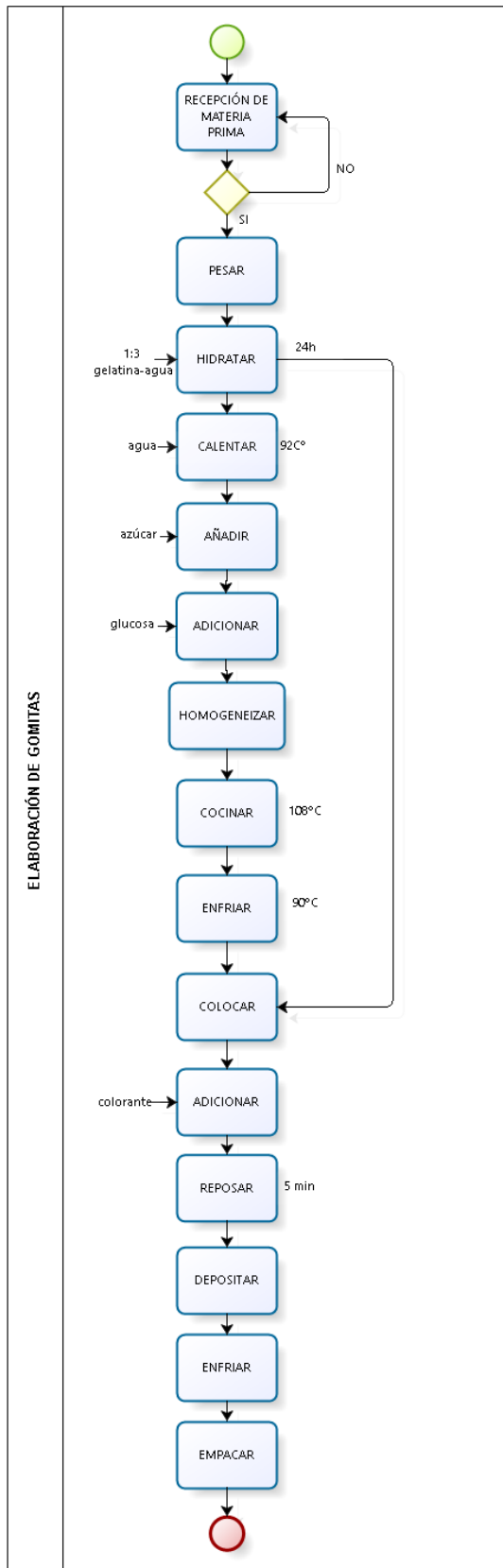


Figura 3. Diagrama de procesos de elaboración de gomitas.

### **2.2.3. Análisis de aceptabilidad**

- Desarrollar encuestas sensoriales, las cuales contengan una ponderación (1-5) de: me disgusta mucho, me gusta mucho; respectivamente.
- Se realizaran los análisis a 10 personas de diferentes edades
- Realizar la encuesta utilizando una gomita con colorante natural (alga), colorante sintético y gomita comercial
- Analizar y comparar las respuestas obtenidas mediante gráficas e información bibliográfica.(González et al., 2014)

### **2.3. Diseño estadístico**

Se utilizara un diseño estadístico descriptivo, con un tratamiento del alga al 1%, con el fin de identificar la aceptación de Chlorella como colorante en la gomita. Mediante el cual se podrán realizar comparaciones de las cualidades organolépticas obtenidas tanto de la gomita elaborada y comercial a través de una comparación de medias.

Se realizaran encuestas de aceptabilidad, en el análisis de las mismas, mediante la valoración de cada atributo del confite (color, olor, sabor, textura, sabor residual), se obtendrán resultados los cuales serán tabulados y promediados con el fin de identificar las mejores cualidades por cada ítem. Se analizaran también las observaciones y retroalimentaciones de quienes realizaron las encuestas.

Una vez que se obtengan los resultados se comparara el grado de aceptación del confite con material bibliográfico y se sustentara la opción del uso de Chlorella como colorante natural en confitería, tomando en cuenta posibles mejoras en el proceso, así como también aumento o reducción del porcentaje de alga utilizada en la preparación de gomitas.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Propagación y Cosecha de microalgas

Con el fin de evaluar la tonalidad que *Chlorella* brindaría a un confite se inició el proyecto mediante la propagación del alga, en los cuales se controlaban: tiempo, aireación, luz y nutrientes. Se inoculó un cultivo madre, del cual posteriormente se propagaron: ocho botellones de 6 litros y cinco tanques de 20 litros. Se realizó un seguimiento del crecimiento del alga, cada cinco días, los mismos que se realizaban por medio de conteo en la cámara de Neubauer tomando en cuenta que la población inicial era de 5 millones y se pretendía obtener un mínimo de 23 millones para iniciar la cosecha.

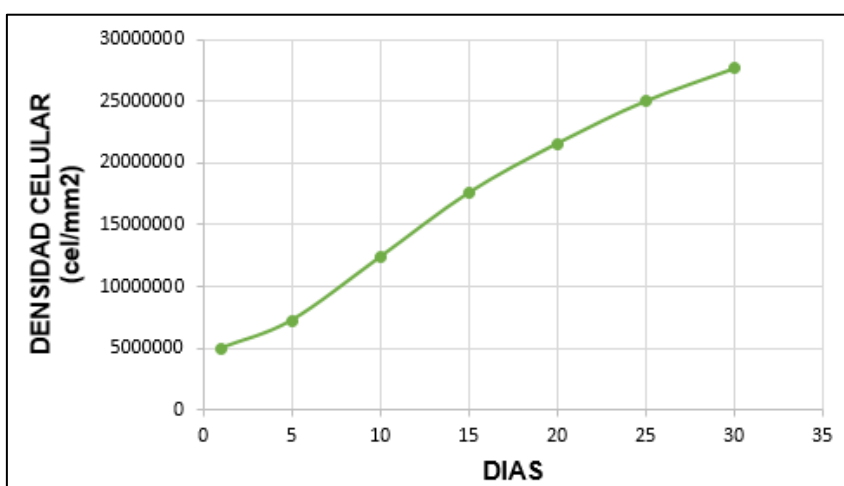


Figura 4. Determinación de biomasa (conteo)

Como se muestra en la figura 4, el crecimiento de *Chlorella* bajo condiciones controladas de aireación y nutrientes alcanza un promedio de 23 millones en densidad celular, lo cual es un indicador de que se puede obtener una biomasa promedio de 0,5 g/L a los 30 días. Los investigadores (Rodas-Gaitán et al., 2012) reportaron que se puede aumentar la producción en biomasa mediante equipo especializado disminuyendo el tiempo de producción y crecimiento del alga, como resultante 2g/L de biomasa.

### 3.1.1. Análisis del rendimiento por litro

El alga seca es pesada y comparada con la cantidad de litros cosechados, para lo cual en cada caja petri se colocaba el precipitado de 4 litros de cultivo de un mismo botellón. Como se muestra en la figura 5, se cosecharon 0,43 g/L en promedio, por lo tanto se procedió a calcular la cantidad necesaria para la práctica mediante una regla de tres, cabe resaltar que la cantidad final de alga seca depende de la densidad celular que haya tenido el botellón al momento de su cosecha, en la investigación se recolectó Chlorella a los 30 días de su propagación, cuya densidad celular por botellón variaba de 22000000-25000000.

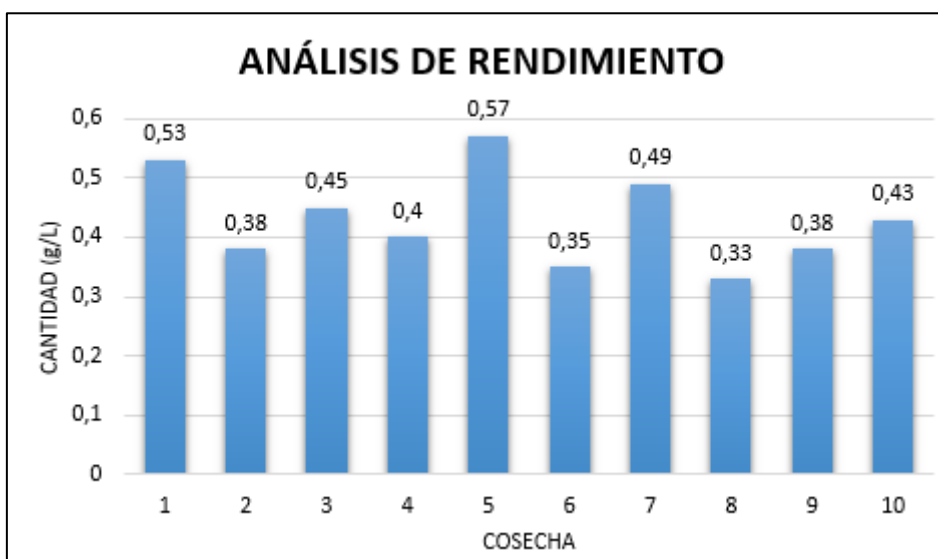


Figura 5. Rendimiento alga seca

#### Datos:

0,43 g por litro

15 g a utilizar

En este caso se requieren de 35 litros del cultivo para alcanzar el objetivo de 15g los cuales serán aplicados en las gomitas, la realización de las mismas requiere una variación en el proceso de adición del colorante natural, con el fin de obtener la tonalidad deseada. El periodo de propagación del alga es de 30 días, posteriormente el centrifugado y secado para esta investigación se demoró 3

meses debido al cronograma de cosecha, los cuales fueron una vez por semana y a la capacidad de los equipos utilizados.

Un grupo de científicos compararon el crecimiento del *Chlorella* bajo un sistema abierto y otro cerrado. De acuerdo con los resultados encontrados, no existieron diferencias de acuerdo al tiempo y densidad celular del cultivo (Cherlys Infante, Edgardo Angulo, Ana Zárate, July Z. Florez, Freddy Barrios, 1984). El desarrollo de esta investigación fue mediante un sistema de cultivo cerrado en donde se controlaron factores como: luz, aireación y nutrientes.

### **3.2. Aplicación del alga en gomitas**

Se realizaron las gomitas mediante un proceso estandarizado en el cual se incorporó 1% de *Chlorella*, tomando en cuenta que existen investigaciones (Fradique et al., 2010), sobre aplicación de microalgas en alimentos, hasta el 5% de concentración en el producto final, sin embargo no existe una dosis establecida para *Chlorella* o microalgas, tomando en cuenta el alga como colorante, se depende mucho de la tonalidad a la que se desee llegar.

En pruebas preliminares, se analizó el momento de adición de la microalga en el proceso de elaboración de la gomita. Se pudo observar que su adición en la misma proporción al inicio o al final del proceso no presenta diferencia en la tonalidad ni en la solubilidad de la misma, sin embargo al exponer al alga a mayor temperatura su sabor será notorio. Por tanto, se coloca el alga al final.

Las microalgas son distribuidas en diferentes presentaciones farmacológicas, sin embargo no existe una amplia gama de aplicación de algas en alimentos, existen publicaciones (Silva Figueira et al., 2011), de adicción de microalgas en: panes, fideos, galletas, cup cakes; espirulina es el alga más utilizada en la formulación de alimentos y de esta especie de alga se comercializan gomitas dirigidas a un público vegano.





*Figura 6. Chlorella añadida a la preparación de gomitas.*

Las microalgas ya eran consideradas como fuente de alimento desde hace varios años, sin embargo desde la última década se las están utilizando como una alternativa proteica, muchos consumidores prefieren consumir producto a base de espirulina o Chlorella por su cantidad de proteína y sus efectos beneficiosos en la salud, además que se alega que la proteína de productos vegetales como de soya pasan por un proceso de extracción y no se aprovechan sus compuestos al máximo, mientras que el alga se la utiliza en su totalidad con más de una proteína y vitaminas en su composición.(Aqualgae, 2015)

### **3.3. Análisis de Aceptabilidad**

Se realizaron las pruebas de aceptabilidad a 10 personas en un rango de 22 a 56 años, tomando en cuenta que la composición de Chlorella puede cambiar las características bromatológicas de una gomita común: mayor cantidad de proteína. Las encuestas sensoriales incluían un rango de ponderación del 1 al 5, siendo 5 “Me gusta mucho” y 1 “Me disgusta mucho”.

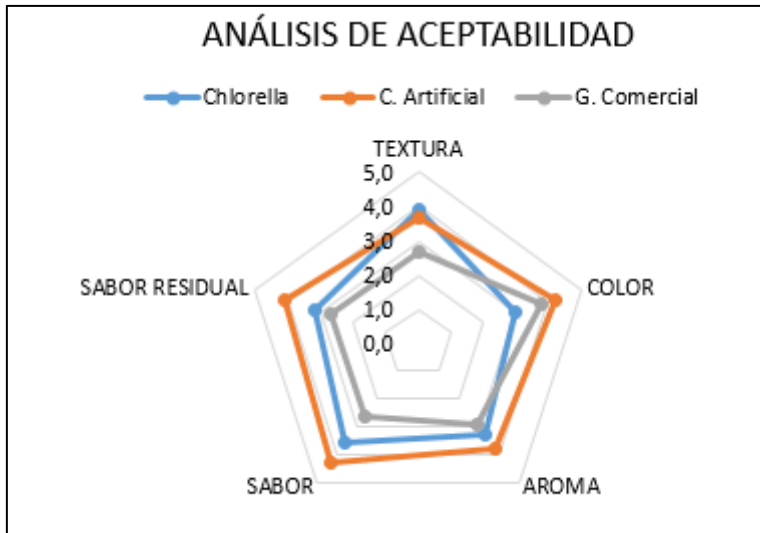


Figura 7. Resultados análisis de estabilidad

### 3.3.1. Color

En la figura 7, se puede observar que el color verde obtenido a partir de Chlorella es el menos aceptado con un promedio de  $3 \pm 0,94$  desviación estándar, esto puede ser ya que los confites mantienen colores intensos y llamativos al público, el verde resultante fue opaco y muy intenso, sin embargo las gomitas comerciales fueron las segundas más aceptadas, por lo que se puede variar la cantidad de Chlorella, hasta obtener la tonalidad deseada.

Debido a los requerimientos de los consumidores, empresas Europeas como Algenuity han decidido implementar nuevos sistemas e investigaciones sobre Chlorella como colorante en alimentos. Se ha dado énfasis en la población vegana ya que son consumidores directos de fuentes de proteínas que no sean de origen animal, en este caso Chlorella aporta con 60% de la misma. (Algenuity, 2019)

El color es uno de los factores más importantes al momento de elegir un producto, por medio de la vista, nuestro cerebro relaciona sabores y olores que llaman la atención de los consumidores. La confitería se destaca por mantener colores vistosos, brillantes y con intensidad. Chlorella es un producto que

requiere de manejos estandarizados e inocuidad, ya que a pesar de obtener el alga seca se han obtenido decoloración de extracto seco y palidez en el mismo, como un indicador de que esta materia prima ya es no es fresca. (ALYS, 2012)

### **3.3.2. Aroma**

En la figura 7, se puede observar que el aroma con mayor aceptación en gomitas, es aquel que resalta su dulzor distintivo, sin añadir esencias o aromas al producto final, en esta investigación las gomitas realizadas con colorante artificial y Chlorella no tenían añadidas esencias, por ello resulto que la gomita con colorante natural a base de alga mantenía un ligero olor a pescado cuya aceptación fue valorada en promedio de  $3,3 \pm 0,82$  desviación estándar, sin embargo por la nomenclatura de su ponderación no fue de agrado ni de desagrado de los catadores.

El aroma que emana un producto crea una percepción instantánea sobre ello e inconscientemente el usuario grava esa experiencia. Según estudios científicos, las personas recordamos el 35% de lo que olemos. (Europapress, 2015). En esta investigación, según las observaciones de los catadores se determinó, que el aroma de Chlorella en la preparación de las gomitas es característico del alga, no interfiere con el producto final.

Chlorella Guide, detalla que si en el producto a base del alga, resaltan olores gustosos se puede consumir sin que este afecte a la salud y sin dudar de su calidad y frescura; existen olores picantes o repulsivos los cuales se dan por contaminación de bacterias. (ALYS, 2012)

### **3.3.3. Sabor**

En la figura 7, se puede observar que el sabor con mayor aceptación en gomitas, es aquel que mantenga el dulzor del confite, sin acentuar sabores muy artificiales o muy concentrados, en esta investigación las gomitas realizadas con colorante

artificial fue la más aceptada con un valor promedio de 3,6 +/-1,17 desviación estándar.

El sabor de chlorella está directamente ligado a la cantidad de clorofila que posee, empresas españolas han desarrollado cepas que sean capaces de retener sus pigmentos naturales, sin que sobresalga su sabor, estas investigaciones han aportado con nuevos colores de Chlorella. Las microalgas están teniendo auge en varios campos de aplicación en alimentos y experimentos, es una alternativa sustentable para el uso de aditivos alimentarios (Cutler, 2019).

En productos de confitería el consumidor busca aquellos que posean sabores puros y agradables, es por ello que existen métodos de extracción de colorante únicamente, pese a su sabor poco notorio se puede realizar combinaciones con frutas y/o verduras que sean de aceptación, ya que pueden ser alimentos funcionales para niños y adultos (Bainet Comunicación S.A., 2016).

#### **3.3.4. Textura**

En la figura 7, se puede observar que la textura con mayor aceptación en gomitas fue la de Chlorella con un promedio de 3,9+/-0,99 desviación estándar, ya que en las observaciones las personas que realizaron el análisis de aceptabilidad detallaron que la gomita tenía una textura suave y delicada al paladar lo que fue de su agrado.

En confitería los gelificantes aportan con textura a las gomitas, estos poseen una cantidad de proteína, sin embargo Chlorella al tener el 60% de proteína en su composición ayudo a mejorar la calidad del producto final y este compuesto no permite la cristalización, es por ello que la gomita que fue realizada bajo los

mismos procedimientos pero con colorantes artificiales tuvo observaciones que se podían percibir gránulos de azúcar mientras se la degustaba. (Thecnifood, 2009).

Además de una gran cantidad de clorofila, los componentes de Chlorella pueden mejorar la calidad del producto final, como: color y textura. Las microalgas son una fuente alterna de proteína y su demanda esta aumentado en la población vegana.

### **3.3.5. Sabor residual**

En la figura 7, tomando en cuenta las observaciones obtenidas mediante la encuesta de aceptabilidad, se puede observar que la mayor aceptación es el de un sabor dulce y placentero tenue que persista en las papilas gustativas, estos sabores tenues crean en el consumidor una experiencia agradable y su cerebro capta y graba estos factores para relacionarlos en un futuro con las diferentes características gustativas.

Después de degustar las gomitas el sabor que permanece en la boca es de gran importancia, ya que puede ser de agrado o desagrado del consumidor. Por lo general la adicción de algas en alimentos deja un regusto agradable, sin embargo este sabor es el producto de que el alga es pura y no ha sido contaminada, pese a esto los consumidores encuentran al alimento de agrado y es aceptado (Bewicke, 2009). Sin embargo, en esta investigación la mejor aceptación la obtuvo la gomita con colorante artificial con un valor promedio de  $3,2 \pm 1,22$  desviación estándar, esto se puede deber a su sabor del azúcar únicamente.

## 4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 4.1. Conclusiones

La propagación de *Chlorella* spp mediante procedimientos estandarizados ha permitido obtener rendimientos mensuales de 0,5g/L corroborando los rendimientos obtenidos por Auz (2019). Sin embargo, al transcurrir tres meses desde la propagación del alga a la cosecha, manteniendo el control de luz y aireación se logró conseguir un rendimiento de 1,25g/L, lo que implica un mayor rendimiento por volumen y mayor capacidad de tinción del alga debido a la densidad celular desarrollada.

La realización de gomitas tiene un procedimiento estandarizado, sin embargo, al momento de añadir un nuevo aditivo es importante tomar en cuenta cómo reaccionan los componentes de la preparación con este nuevo ingrediente. Una de las diferencias notorias en el procedimiento fue que al añadir el colorante natural mientras se formaba el almíbar, se incrementó la intensidad de sabor del alga, manteniendo el mismo color que cuando *Chlorella* fue añadida en el almíbar a 90°C, por ello se concluyó que la capacidad de dilución del colorante no tiene relación con la temperatura.

La evaluación de las características organolépticas de las gomitas con colorante natural a base de *Chlorella*, ha dado como resultado falta de aceptación en el parámetro de color, siendo esta la menos valorada, tomando en cuenta que la concentración utilizada fue del 1%, en distintos alimentos se ha utilizado hasta el 5% (Silva Figueira et al., 2011). A pesar de no haber tenido buenos resultados referente al color, se puede notar una mejor valoración en el parámetro de textura, lo que puede ser un indicador que el alga además de brindar color también afectó a otros parámetros organolépticos en los alimentos.

## 4.2. Recomendaciones

Debido a la composición de Chlorella se recomienda realizar un análisis bromatológico del producto final, de esta manera se puede analizar si en el producto se representan cantidades significativas de proteína o vitaminas, las cuales pueden aportar con sus efectos antioxidantes y energéticas. Ya que podría ser utilizado para el desarrollo de productos funcionales apetecibles por los consumidores.

Chlorella aporta con un color verde oscuro el cual es poco común dentro de gomitas, sin embargo en los mismos productos a base de espirulina se ha identificado que el color es súper concentrado, por ello se recomienda mantener concentraciones más altas o más bajas de la estudiada en esta investigación, con el fin de obtener una tonalidad apetecible.

Utilizar moldes de silicona para depositar el jarabe de gomitas ya que se pudo observar que mediante la utilización de maicena como molde se pierde el brillo de las gomitas, una vez que las gomitas estén listas aceitarlas, se las puede recubrir con azúcar.

Se recomienda realizar pruebas con diferentes métodos de extracción de colorante ya que el sabor de Chlorella fue representativo al momento de exponerlo a altas temperatura (108°C).

Se podrían desarrollar aditivos naturales a base de microalgas que mantengan una cadena productiva de la misma durante todo el año, bajo condiciones específicas que no requieran de aspectos externos para que la producción sea óptima.

## REFERENCIAS

- Algenuity. (2019). *Algenuity's Chlorella Colours® platform launches at this year's Vitafoods Europe*. <https://www.algenuity.com/algenuitys-chlorella-colours-platform-launches-at-this-years-vitafoods-europe>
- ALYS. (2012). *CHLORELLA GUIDE*. <http://www.chlorella-guide.com/es/definicion.html>
- Andrade, R., Torres Gallo, R., Montes Montes, E. J., & Fernandez, A. (2007). Obtención de harina a partir del cultivo de *Chlorella vulgaris* y su análisis proteico. *Temas Agrarios*, 12(1), 50. <https://doi.org/10.21897/rta.v12i1.650>
- Apfel, I. (2017). *COLORANTES NATURALES*. <https://www.ciaindumentaria.com.ar/plataforma/colorantes-naturales/>
- Aqualgae. (2015). *Las microalgas como fuente de alimento*. [http://aqualgae.com/es/actualidad/microalgas\\_fuente\\_alimento/](http://aqualgae.com/es/actualidad/microalgas_fuente_alimento/)
- Ascaso, P. (2019). *Los 10 superalimentos imprescindibles para tu dieta*. <https://www.mujerhoy.com/vivir/salud/201902/28/los-superalimentos-imprescindibles-para-la-dieta-70782598435-ga.html>
- Auz, E. (2019). *Efecto de ácido Indol 3-Acético (AIA) exógeno en la productividad de tres biotipos de Chlorella endémica del Ecuador*.
- BainetComunicaciónS.A. (2016). *Chlorella: qué es, beneficios y cómo tomarla*. <https://www.hogarmania.com/cocina/recetas/ensaladas-verduras/chlorella-que-es-beneficios-como-tomarla.html#:~:text=La chlorella presenta un sabor,beneficiarte de sus múltiples propiedades.>
- Bermejo, R. (2012). *Obtienen colorantes naturales de microalgas como alternativa a los artificiales*. <https://www.agenciasinc.es/Noticias/Obtienen-colorantes-naturales-de-microalgas-como-alternativa-a-los-artificiales>
- Bewicke, D. (2009). *Chlorella: The Emerald Food*. [https://books.google.com.ec/books?id=dpYIVB9TBTAC&pg=PA31&lpg=PA31&dq=aftertaste+of+chlorella&source=bl&ots=mZygFpHdAt&sig=ACfU3U08aA4RkAzw\\_jxsUozDsx5bzjNKw&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwjc8tTZu8vqAhXrg-AKHxj\\_AdkQ6AEwAHoECAoQAQ#v=onepage&q=aftertaste of chlorell](https://books.google.com.ec/books?id=dpYIVB9TBTAC&pg=PA31&lpg=PA31&dq=aftertaste+of+chlorella&source=bl&ots=mZygFpHdAt&sig=ACfU3U08aA4RkAzw_jxsUozDsx5bzjNKw&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwjc8tTZu8vqAhXrg-AKHxj_AdkQ6AEwAHoECAoQAQ#v=onepage&q=aftertaste of chlorell)
- Calvo, M. (2017). *BIOQUIMICA DE LOS ALIMENTOS*. <http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/pigmentos/clorofila.html>
- Carlos-Martin-Sastre, A.-M.-S. & Y.-G.-A. &. (2014). *Uso y aplicaciones potenciales de las microalgas*.
- CFN. (2017). *Ficha sectorial: Ficha Sectorial: Elaboracion de Chocolates, Cacao y Productos de Confiteria*. <https://www.cfn.fin.ec/wp-content/uploads/2017/10/Ficha-Sectorial-Confiteria.pdf>
- Cherlys Infante, Edgardo Angulo, Ana Zárate, July Z. Florez, Freddy Barrios, C. Z. (1984). *Structural Strength and Safety - the Profession At a Crossroad*.



*Concrete International*, 6(10), 42–45.

- Cutler, N. (2019). *Colour and scent controlled chlorella created for supercharged food and drink*. [https://www.nutraingredients.com/Article/2019/05/22/Colour-and-scent-controlled-chlorella-created-for-supercharged-food-and-drink?utm\\_source=copyright&utm\\_medium=OnSite&utm\\_campaign=copyright](https://www.nutraingredients.com/Article/2019/05/22/Colour-and-scent-controlled-chlorella-created-for-supercharged-food-and-drink?utm_source=copyright&utm_medium=OnSite&utm_campaign=copyright)
- Dominguez, C. (2019). *10 beneficios de la chlorella y cómo introducir este superalimento en tu vida*. <https://www.enfemenino.com/salud/sorprendentes-beneficios-chlorella-s1627664.html>
- Europapress. (2015). *Marketing olfativo: El aroma del éxito*. <https://www.europapress.es/economia/noticia-olor-tienda-te-hecho-entrar-ella-bienvenido-marketing-olfativo-20150221081449.html>
- Fradique, Mónica, Batista, A. P., Nunes, M. C., Gouveia, L., Bandarra, N. M., & Raymundo, A. (2010). Incorporation of *Chlorella vulgaris* and *Spirulina maxima* biomass in pasta products. Part 1: Preparation and evaluation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(10), 1656–1664. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3999>
- González Céspedes, A. M. (2016). Cultivos De Microalgas a Gran Escala: Sistemas De Producción 1. Introducción. *ADNAgro*, 14.
- González, V., Rodeiro, C., Sanmartín, C., & Vila, S. (2014). Introducción al análisis sensorial Estudio hedónico del pan en el IES Mugaros. *Sgapeio*, 26.
- Hernández-Pérez, A., & Labbé, J. I. (2014). Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 49(2), 157–173. <https://doi.org/10.4067/S0718-19572014000200001>
- Kobylewski, S., & Jacobson, M. F. (2010). Food Dyes: A Rainbow of Risks. *Decision Sciences*, 30(2), 337–360.
- Maitezudaire. (2001). *Historia y origen de los dulces*. <https://www.consumer.es/alimentacion/historia-y-origen-de-los-dulces.html>
- Maldonado, E., Morales, E., & Romero, P. (2013). *Evaluación de la Capacidad Mixotrófica *Graesiella emersonii* ( *Chlorella emersonii* ) con sustratos amiláceos*. 10.
- Mariano Astacondor, M., Mayta Huatuco, E., Montoya Terreros, H., & Tarazona Delgado, R. (2017). Crecimiento Poblacional y Productividad de la Microalga Nativa *Chlorella* peruviiana bajo Diferentes Salinidades. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 28(4), 976. <https://doi.org/10.15381/rivep.v28i4.13004>
- Morales, E. (2020). *Posibles riesgos para la salud por consumo de colorantes artificiales*. <https://mejorconsalud.com/posibles-riesgos-para-la-salud-por-consumo-de-colorantes-artificiales/>

- NTE INEN 2217. (2012). Productos De Confitería. Caramelos, Pastillas, Grageas, Gomitas Y Turrone. Requisitos. *Inen:2000, 2217, 11*. <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.2217.2012.pdf>
- Pacheco, D. (2015). *Colorantes alimentarios: tipos y sus características*. <https://www.lifeder.com/colorantes-alimentarios/>
- Picallo, A. (2009). Análisis sensorial de los alimentos : el imperio de los sentidos. *Encrucijadas UBA, 46(46), 8*. <http://repositorioubi.sisbi.uba.ar>
- Rocío, J. (2013). La química de los colorantes en los alimentos. *Química Viva, 12, 234–246*. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86329278005>
- Rodas-Gaitán, H. A., Rodríguez-Fuentes, H., Flores-Mendiola, G., Vidales-Contreras, J. A., Aranda-Ruiz, J., & Luna-Maldonado, A. I. (2012). Effect of inoculation cellular density on *Chlorella vulgaris* CLV2 growth cultivated under mixotrophic conditions. *Revista Fitotecnia Mexicana, 35(ESPECIAL 5), 83–86*.
- Santiago, R., Jose, R., Becerra, A., Jiménez, G., & Villarreal, V. (2019). Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos Extracción y cuantificación de clorofila en hojas comestibles del estado de Tabasco. *Universidad Tecnológica de Tabasco, División de Procesos Industriales, Carretera Villahermosa-Teapa, 4, 891–896*. <http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume4/4/10/126.pdf>
- Silva Figueira, F. da, Moraes Crizel, T. de, Rubira Silva, C., & las Mercedes SALAS-MELLADO, M. de. (2011). Pão sem glúten enriquecido com a microalga *Spirulina platensis*. *Brazilian Journal of Food Technology, 14(04), 308–316*. <https://doi.org/10.4260/bjft2011140400037>
- Soria, P. (2015). *Marshmallows y Gomas*.
- Suárez-Salazar, J. C., Rojas-Castillo, J. A., Duran-Bautista, E. H., & Ortiz-Cifuentes, N. (2016). Pigmentos fotosintéticos y conductancia estomática en ecotipos de copoazú (*Theobroma grandiflorum* Willd. Ex. Spreng K. Schum.). *Agronomía Mesoamericana, 28(1), 199*. <https://doi.org/10.15517/am.v28i1.20814>
- Thecnifood. (2009). *Gelificantes: dan textura y suplantán a las grasas*. <https://techpress.es/gelificantes-dan-textura-y-suplantán-a-las-grasas/>
- UAMI. (2015). *Colorantes*.
- Vera, Y. C., Catalina, N., & Rojas, L. (2016). *ELABORACION DE GALLETAS FUNCIONALES CON ADICION DE CLOROFILA. 23(36), 49–56*.

## **ANEXOS**

## Anexo 1. Propagación y cosecha de Chlorella



*Figura 8. Cultivo madre y fertilizante*



*Figura 9. Propagación de microalgas*



*Figura 10. Esterilización de material de laboratorio.*



*Figura 11. Proceso de cosecha*



Figura 12. Proceso de centrifugación.



Figura 13. Alga seca



*Figura 14. Raspado de alga seca*



*Figura 15. Alga seca triturada*

Anexo 2. Adición de Chlorella en la gomita



*Figura 16. Insumos utilizados para la realización de la gomita*



*Figura 17. Gomitas con colorante artificial, natural y comercial.*

### Anexo 3. Análisis de aceptabilidad





Nombre y Apellido: \_\_\_\_\_

Edad: \_\_\_\_\_

Frente a usted se encuentran tres muestras de gomitas, la cual deberá probar y evaluar de acuerdo con cada uno de los atributos mencionados, dando una valoración según su criterio. Para realizar el cambio de muestras neutralice el sabor con la galleta y beba un poco de agua.

MUESTRA	GOM305	GOM131	GOM425
ATRIBUTOS			
Color			
Aroma			
Sabor			
Textura			
Sabor residual			

**Ponderación**

PUNTAJE	NIVEL DE AGRADO
5	Me gusta mucho
4	Me gusta moderadamente
3	No me gusta ni me disgusta
2	Me disgusta moderadamente
1	Me disgusta mucho

**OBSERVACIONES**


Figura 18. Formato de encuesta de aceptabilidad

