

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO**  
**FACULTAD DE INGENIERIA QUÍMICA**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA QUÍMICA**



**OBTENCIÓN DE COLORANTE NATURAL A PARTIR DE LA CÁSCARA DE  
TUNA PÚRPURA (*Opuntia ficus-indica*) POR EL MÉTODO DE  
EXTRACCIÓN SÓLIDO-LÍQUIDO PARA SU APLICACIÓN EN LA  
INDUSTRIA DE ALIMENTOS, FRUTO PROVENIENTE DEL DISTRITO DE  
SAN CRISTÓBAL-MOQUEGUA.**

**TESIS**

**PRESENTADA POR:  
CANDELARIA MILAGROS NAYHUA YANA**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:  
INGENIERO QUÍMICO**

**PUNO – PERÚ**

**2017**

## UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO

## FACULTAD DE INGENIERIA QUÍMICA

## ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA QUÍMICA

“Obtención de colorante natural a partir de la cáscara de tuna púrpura (*Opuntia ficus-indica*) por el método de extracción sólido-líquido para su aplicación en la industria de alimentos, fruto proveniente del Distrito de San Cristóbal-Moquegua.”

TESIS PRESENTADA POR:

Candelaria Milagros Nayhua Yana



PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE: INGENIERO QUÍMICO

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 29 DE DICIEMBRE 2017

APROBADA POR EL JURADO REVISOR CONFORMADO POR:

PRESIDENTE :   
Mg. Higinio Alberto Zúñiga Sánchez

PRIMER MIEMBRO :   
Ing. William Edward Zenteno Zenteno

SEGUNDO MIEMBRO :   
M.Sc. Adelaida Giovanna Viza Salas

DIRECTOR / ASESOR :   
M.Sc. Janette Rosario Ramos Pineda

Área: Procesos industriales

Tema: Obtención de colorante natural

Línea: Tecnología de alimento

## DEDICATORIA

A Dios por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mi madre Victoria Yana por ser el mejor ejemplo de perseverancia y fortaleza para salir adelante, por formarme con buenos principios y valores que me guían a tomar mejores decisiones.

A mis hermanas Maribel, Elizabeth, Gabriela y mi hermano Edilberto por la paciencia, comprensión y acompañarme siempre en los momentos más difíciles.

A todos mis amigos y familiares por sus consejos y por el gran apoyo incondicional.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecer a la Universidad Nacional del Altiplano en especial a la facultad de ingeniería química a toda la plana docente y al personal administrativo.

A mi directora de tesis Ing. M.Sc. Janette Rosario Ramos Pineda y al Ing. Juan Ramon por guiarme en el transcurso de este trabajo especialmente en la parte experimental.

Al Ing. Mg. Higinio Alberto Zuñiga Sanchez, al Ing. William Edward Zenteno Zenteno y a la M.Sc. Adelaida Giovanna Viza Salas por sus recomendaciones en la realización de la tesis y por sus acertados comentarios.

MUCHAS GRACIAS.

## ÍNDICE GENERAL

<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	9
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	10
<b>ÍNDICE DE ACRÓNIMOS</b> .....	12
<b>RESUMEN</b> .....	13
<b>ABSTRACT</b> .....	14
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	15
1.1. ANTECEDENTES.....	16
1.1. OBJETIVOS.....	17
1.1.1. OBJETIVO GENERAL.....	17
1.1.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	17
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	18
2.1. MARCO CONCEPTUAL .....	18
2.1.1. TUNA ( <i>Opuntia ficus-indica</i> ) .....	18
2.1.2. BETALAINAS.....	18
2.1.3. COLORANTES .....	18
2.1.4. COLORANTES ARTIFICIALES .....	18
2.1.5. COLORANTES NATURALES.....	19
2.1.6. EXTRACCIÓN SÓLIDO-LÍQUIDO .....	19
2.1.7. SOLVENTE.....	20
2.1.8. FILTRACIÓN.....	20
2.1.9. ESPECTROSCOPIA UV/VIS .....	20
2.1. MARCO TEÓRICO .....	21
2.2.1. COLORANTES ALIMENTARIOS.....	21
2.2.2. TUNA ( <i>Opuntia ficus – indica</i> ).....	24

a) Taxonomía .....	24
b) Origen.....	24
c) Nombres Comunes.....	25
d) Descripción botánica .....	25
e) Producción Nacional.....	26
f) Composición química de la tuna.....	27
g) Compuestos Bio activos de la tuna .....	29
2.2.3. BETALAINAS .....	30
2.2.3.1. Clasificación de las betalainas presentes en la tuna ( <i>Opuntia ficus-indica</i> ) .....	31
a) Betacianinas .....	31
b) Betaxantinas.....	32
2.2.4. ESTABILIDAD DE LAS BETALAINAS .....	32
2.2.4.1. Factores que afectan la estabilidad de las betalainas .....	32
2.2.4.2. Betalainas como aditivo alimentario .....	34
2.2.4.3. Comercialización y uso de las betalainas .....	35
2.2.5. PARÁMETROS DE ANÁLISIS SENSORIAL DE LOS ALIMENTOS... 36	
2.2.5. MÉTODOS DE IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE BETALAINAS.....	39
2.2.5.1. Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) .....	39
2.2.5.2. La espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN) ....	39
2.2.5.3. Espectrofotometría UV/VIS .....	39
2.1.9.1. Componentes de un espectrofotómetro UV/VIS.....	41
2.2.6. LEY DE LAMBERT-BEER .....	42
2.2.7. APROVECHAMIENTO DE RESIDUOS ORGÁNICOS .....	43
2.3. HIPOTESIS.....	44
2.3.1. HIPOTESIS GENERAL.....	44

2.3.2. HIPOTESIS ESPECÍFICAS .....	44
2.3.3. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....	44
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>45</b>
3.1. MATERIALES .....	45
3.1.1. MATERIAL DE LABORATORIO, EQUIPOS Y REACTIVOS .....	45
3.2. METODOLOGÍA .....	46
3.2.1. MATERIA PRIMA.....	46
3.2.2. SELECCIÓN Y LIMPIEZA .....	46
3.2.4. ACONDICIONAMIENTO.....	46
3.2.5. EVALUACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LA CÁSCARA DE TUNA ( <i>Opuntia ficus-indica</i> ).....	46
3.2.6. OBTENCIÓN DEL COLORANTE (Betalainas) .....	47
a) Preparación del solvente a diferentes concentraciones.....	47
b) Pesado de muestra.....	47
c) Filtración .....	47
3.2.7. CALIBRACIÓN DEL ESPECTOFOTOMETRO UV/VIS (UNICO / SQ2802E).....	47
3.2.8. CUANTIFICACIÓN DE BETALAINAS .....	48
3.2.9. CONCENTRACIÓN DEL PIGMENTO .....	48
3.2.10. APLICACIÓN DEL COLORANTE OBTENIDO .....	49
a) Aplicación del colorante en yogurt natural.....	49
b) Aplicación del colorante en helado.....	49
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>51</b>
4.1. EVALUACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LA CÁSCARA DE TUNA ( <i>Opuntia ficus-indica</i> ).....	51
4.2. PROCESO DE OBTENCIÓN DEL COLORANTE.....	54
4.2.1. EVALUACIÓN DE LAS VARIABLES MÁS INFLUYENTES.....	54

4.2.2. DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS ÓPTIMOS PARA EL PROCESO DE OBTENCIÓN DE BETALAINAS.....	59
4.2.3. ANÁLISIS CUANTITATIVO DEL COLORANTE NATURAL OBTENIDO .....	63
4.2.4. EVALUACIÓN SENSORIAL DE LA APLICACIÓN DEL COLORANTE EN ALIMENTOS .....	64
a) Aplicación del colorante en yogurt natural.....	64
b) Aplicación del colorante en helado .....	64
<b>V.CONCLUSIONES</b> .....	66
<b>VI. RECOMENDACIONES</b> .....	67
<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</b> .....	68
<b>ANEXOS</b> .....	71



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Fruto de <i>Opuntia ficus – indica</i> (L.) Miller “tuna”.....	26
<b>Figura 2.</b> Estructura general del ácido betalámico (a), betacianina (b) y betaxantina (c).....	30
<b>Figura 3.</b> Estructura química de las betacianinas <i>Opuntia ficus – indica</i> (L.) Miller.....	31
<b>Figura 4.</b> Estructura química de las betaxantinas en <i>Opuntia ficus – indica</i> .....	32
<b>Figura 5.</b> Componentes de un espectrofotómetro .....	41
<b>Figura 6.</b> Niveles de rangos de energía absorbida .....	42
<b>Figura 7.</b> Proceso de obtención de colorante natural (betalainas) a partir de la cáscara de tuna ( <i>Opuntia ficus-indica</i> ). .....	50
<b>Figura 8.</b> Efecto de la concentración del solvente en el proceso de obtención del colorante natural.....	55
<b>Figura 9.</b> Efecto del tiempo en el proceso de obtención del colorante natural. .	57
<b>Figura 10.</b> Efecto de la cantidad de cáscara en el proceso de obtención del colorante natural.....	58
<b>Figura 11.</b> Balance de materia en el proceso de obtención del colorante natural (betalainas) a partir de la cáscara de tuna ( <i>Opuntia ficus-indica</i> ).....	62
<b>Figura 12.</b> Efectos estimados. ....	75
<b>Figura 13.</b> Gráfica de los efectos principales.....	76
<b>Figura 14.</b> Superficie de respuesta estimada .....	79
<b>Figura 15.</b> Contorno de superficie de respuesta estimada. ....	79

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Colorantes artificiales.....	22
<b>Tabla 2.</b> Colorantes naturales y derivados.....	23
<b>Tabla 3.</b> Ventajas y desventajas del uso de colorantes naturales y artificiales..	24
<b>Tabla 4.</b> Producción de <i>Opuntia ficus – indica</i> (L.) Miller “tuna” en el Perú – Año 2014 .....	27
<b>Tabla 5.</b> Análisis Bromatológico de <i>Opuntia ficus- indica</i> “tuna” .....	27
<b>Tabla 6.</b> Composición química de la pulpa de <i>Opuntia ficus - indica</i> (L.) Miller “tuna” .....	28
<b>Tabla 7.</b> Composición mineral de la pulpa de <i>Opuntia ficus – indica</i> (L.) Miller .	28
<b>Tabla 8.</b> Composición químico bromatológico de la cáscara de <i>Opuntia ficus – indica</i> (L.) Miller “tuna”, en muestra fresca y muestra seca. ....	29
<b>Tabla 9.</b> Principales minerales de la cáscara de <i>Opuntia ficus – indica</i> (L.) Miller “tuna”, en muestra fresca y seca. ....	29
<b>Tabla 10.</b> Regiones del espectro Ultravioleta y visible y sus rangos o zonas comprendidas.....	40
<b>Tabla 11.</b> Cuadro de operacionalización de variables .....	44
<b>Tabla 12.</b> Representación del peso de cáscaras en función al peso total del fruto .....	51
<b>Tabla 13.</b> Resultados de la evaluación del pH que presenta la cáscara de tuna. ....	52
<b>Tabla 14.</b> Resultados de la evaluación de los sólidos solubles presentes en la cáscara de tuna.....	53
<b>Tabla 15.</b> Resultados de la evaluación del porcentaje de humedad de la cáscara de tuna. ....	54
<b>Tabla 16.</b> Resultados de la evaluación de concentración del solvente en el proceso de obtención del colorante.....	55

<b>Tabla 17.</b> Resultados de la evaluación del tiempo en el proceso de obtención del colorante.....	56
<b>Tabla 18.</b> Resultados de la evaluación de cantidad de materia prima en el proceso de obtención del colorante.....	58
<b>Tabla 19.</b> Niveles de las variables independientes a estudiar .....	60
<b>Tabla 20.</b> Variable respuesta .....	60
<b>Tabla 21.</b> Resultados de determinación de las variables por superficie de respuesta.....	61
<b>Tabla 22.</b> Resultados de las variables óptimas.....	61
<b>Tabla 23.</b> Resultados del análisis del pigmento concentrado .....	63
<b>Tabla 24.</b> Resultados de la aplicación del colorante en yogurt natural. ....	64
<b>Tabla 25.</b> Resultados de la aplicación del colorante en helado .....	64
<b>Tabla 26.</b> Niveles de las variables independientes a estudiar .....	72
<b>Tabla 27.</b> Variable respuesta .....	72
<b>Tabla 28.</b> Matriz del diseño experimental Box-Behnken .....	73
<b>Tabla 29.</b> Resultados de la variable respuesta. ....	74
<b>Tabla 30.</b> Resumen del diseño de experimentos.....	74
<b>Tabla 31.</b> Efectos estimados para Betalaina.....	75
<b>Tabla 32.</b> Análisis de Varianza para la obtención de betalainas.....	77
<b>Tabla 33.</b> Coeficiente de regresión del modelo ajustado. ....	78
<b>Tabla 34.</b> Resultados de las variables óptimas.....	80

**ÍNDICE DE ACRÓNIMOS**

Cm	: Centímetros
nm	: Nanometros
L	: Litro.
ml	: Mililitro.
mgr	: Miligramos
pH	: Potencial de hidrógeno.
°C	: Grados Centígrados.
Abs	: Absorbancia
GSFA	: Norma General del Codex Alimentarius
FDA	: Administración de Medicamentos y Alimentos
FEMA	: Asociación de Fabricantes de Extractos y Sabores
SIN	: Sistema Internacional de Numeración de Aditivos Alimentarios
COLOR INDEX:	Índice Internacional del Color
DPPH	: Radical 1,1-Difenil-2-Picrilhidrazilo

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación, se realizó con el objetivo de obtener un colorante natural (betalainas) por el método de extracción sólido-líquido partir de la cáscara de tuna para su aplicación en la industria de alimentos, en la evaluación fisicoquímica se trabajó con una representación promedio de las muestras donde se observa que la cáscara de tuna representa un 46,82% del peso del fruto entero, con un pH igual a 5,39, sólidos solubles 5,02 °Brix y humedad de 85,17%. Se determinó los parámetros de concentración del solvente realizando varias muestras a diferentes concentraciones de etanol en un rango de 30 - 90%, en un tiempo de 30-120 min y una cantidad de materia prima de 5-15 gr. Se cuantifico la concentración de betalainas por el método de espectrofotómetro UV/VIS con un valor de 0,173 mg de betalainas. Los resultados anteriormente mencionados se optimizaron, utilizando el diseño experimental Box-Benhken teniendo como resultados lo siguiente: La concentración del etanol es 75%, en un tiempo de 90 min. y una cantidad de materia prima de 11,2 gr. obteniendo 0,285 mg de betalainas para el proceso de extracción del colorante natural, donde se obtuvo un rendimiento de 83%. Así mismo, se usó el pigmento obtenido como colorante natural en yogurt y helado con éxito.

**Palabras Clave:** Tuna (*Opuntia ficus-indica*), Betalainas, Betacianinas, Betaxantinas, Extracción.

**ABSTRACT**

The present research work, it was carried out with the objective of obtaining a natural dye (betalains) by the method of solid-liquid extraction from the tuna peel for its application in the food industry, in the physicochemical evaluation it was worked with an average representation of the samples where it is observed that the rind of tuna represents 46.82% of the weight of the whole fruit, with a pH equal to 5.39, soluble solids 5.02 ° Brix and humidity of 85.17%. The concentration parameters of the solvent were determined by making several samples at different concentrations of ethanol in a range of 30-90%, in a time of 30-120 min and a quantity of raw material of 5-15 gr. The concentration of betalains was quantified by the UV / VIS spectrophotometer method with a value of 0.173 mg of betalains. The aforementioned results were optimized, using the Box-Benhken experimental design, with the following results: The ethanol concentration is 75%, in a time of 90 min. and a quantity of raw material of 11.2 gr. obtaining 0.285 mg of betalains for the extraction process of the natural dye, where a yield of 83%. Likewise, the pigment obtained as a natural colorant in yoghurt and ice cream was used successfully.

**Key Words:** Tuna (*Opuntia ficus-indica*), Betalaines, Betacyanines, Betaxanthines, Extraction.

## I. INTRODUCCIÓN

El color es uno de los atributos más importantes en los alimentos y se considera un indicador de calidad y aceptabilidad. Durante el procesamiento y/o almacenamiento, los alimentos son susceptibles a perder color, por lo cual la industria de alimentos utiliza colorantes para resaltar, recuperar o uniformar el color original (Azeredo, 2008).

Los colorantes pueden ser de origen natural ó artificial, siendo estos últimos los más utilizados. Sin embargo, las regulaciones oficiales de la Unión Europea y EEUU han restringido el uso de colorantes artificiales debido a sus posibles efectos adversos sobre la salud (Tsuda 2001, Amin 2010). En la actualidad existe un creciente interés en el desarrollo, utilización y consumo de colorantes naturales (Stintzing & Carle, 2004).

La tuna (*Opuntia ficus-indica*), es una especie que crece de manera silvestre en la región de la sierra peruana, siendo la región de Ayacucho la de mayor producción, seguida de Apurímac y Huancavelica. En estas regiones se usa como alimento y medicina. Existen muchas variedades, entre las que destacan está la tuna púrpura, amarilla, blanca, caigua, etc. La tuna contiene pigmentos naturales como la betacianina y la betaxantina, que pertenece al grupo de pigmentos betalainas, muy confundido con las antocianinas que hay en muchas especies como el maíz morado, la papa morada, sauco, camote morado, etc. (López Guerra, 2014).

Las betalainas son pigmentos naturales hidrosolubles que podrían ser utilizados potencialmente como colorantes (rojos y amarillos), que poseen además actividad antioxidante. Estos pigmentos son particularmente escasos en la naturaleza; se encuentran en la betarraga (*Beta vulgaris*), semillas y hojas de amaranto (*Amaranthus sp.*) y en algunas cactáceas del género *Opuntia* y *Hylocereus*, como la tuna púrpura, las pitayas y pitahayas (Stintzing, 2002; Vaillant, 2005).

El aprovechamiento integral de las frutas es un requerimiento y a la vez una demanda que deben cumplir los países que desean implementar las denominadas “tecnologías limpias” o “tecnologías sin residuos” en la agroindustria. De tal modo que todas aquellas fracciones del fruto, tales como:

pieles, cáscaras, semillas, corazones y los extremos o coronas, no resulten agravantes para el beneficio económico de la empresa y mucho menos para el medio ambiente y se puedan derivar a productos principales o secundarios para la alimentación humana (Cerezal P. & Duarte G. 2005).

Las tunas no escapan a las investigaciones de aprovechamiento de las diferentes partes del fruto tratando de aumentar el rendimiento, diversificar su utilización y lograr una gama amplia de productos secundarios y principales que motiven mayores esfuerzos para su utilización (Sáenz C., 2000).

Es por ello que nos planteamos el objetivo de extraer el color que posee la cáscara de tuna purpura (*Opuntia ficus-indica*) para aplicarlo en la industria de los alimentos.

### 1.1. ANTECEDENTES

**López Guerra (2014).** En su investigación extrajo el colorante natural de la pulpa del fruto (*Opuntia ficus-indica*) con el fin de evaluar la actividad antioxidante y su aplicación en crema de chantilly. Donde obtuvieron un rendimiento del 16% de la masa total. La actividad antioxidante del extracto frente al radical 1,1-Difenil-2-Picrilhidrazilo (DPPH) fue de 62,56% comparado con la vitamina C que fue de 69,77%. Concluyeron que a mayor concentración del extracto hay mayor efecto antioxidante.; finalmente, determinaron los parámetros de color, olor, sabor mediante evolución sensorial del producto crema chantilly a la que añadieron el extracto.

**Huaman Congora (2014).** Extrajo betalainas a partir de la cascara de tuna morada deshidratada de los frutos del departamento de Ayacucho, con el fin de evaluar el efecto de la temperatura, pH y tiempo de almacenamiento, el solvente con el que obtuvieron un mejor rendimiento fue el agua. Así mismo, evaluaron que las betalainas se degradan a medida que aumenta la temperatura. También concluyeron que las betalainas se mantienen mejor a 4°C comparado con los de 24 °C, siendo más estable a un pH igual a 4,5. Finalmente determinaron el contenido de betacianinas igual a 80,57 mg/100g de cáscara y betaxantinas igual a 8,66 mg/100 g de cáscara.

**Prakash Maran (2012).** Evaluó las condiciones óptimas para la extracción de pigmentos de la pera espinosa (*Opuntia ficus-indica*) usando el diseño



experimental Boxe-Behnken de tres factores. Los pigmentos fueron extraídos de la pulpa del fruto seco usando agua como disolvente a diferentes temperaturas de extracción, tiempo y masa de pulpa. Donde encontró los valores óptimos de las variables: temperatura de extracción de 40°C, tiempo de 115 min y masa de 1,44 g. Finalmente determino la concentración de betacianina igual a 24,29 mg / 100 gr. y betaxantina igual a 13,43 mg / 100 gr. Con un valor de deseabilidad de 0,917.

**Sánchez Gonzales (2006).** En su investigación realizo la evaluación del solvente adecuado para la extracción empleando como disolventes metanol/ agua y etanol/agua, concluyendo que las betalainas tienen mayor solubilidad en metanol. El pigmento fue extraído de la pulpa del fruto, considero tres variables para su sistema de evaluación concentración del disolvente, temperatura, y tiempo. También observo la máxima estabilidad de la betalaina a un pH igual a 5. Con la ayuda de una metodología de superficie de respuesta encontró las variables óptimas del proceso de extracción: temperatura 15°C, un tiempo de 10 min y una concentración de metanol al 80%, donde obtuvo 92 mg de betalaina en 100 gr de pulpa.

## 1.1. OBJETIVOS

### 1.1.1. OBJETIVO GENERAL

Obtener el colorante natural a partir de la cáscara de tuna púrpura (*Opuntia ficus-indica*) por el método de extracción sólido-líquido para su aplicación en la industria de alimentos.

### 1.1.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Evaluar las características fisicoquímicas de la cáscara de tuna (*Opuntia ficus-indica*).
- Determinar los parámetros óptimos de concentración del solvente, tiempo y cantidad de materia prima para proceso de extracción del colorante natural.
- Cuantificar la concentración de betalainas por espectrofotometría UV-VIS.
- Aplicar y evaluar la estabilidad el colorante en yogurt natural y helado.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. MARCO CONCEPTUAL

#### 2.1.1. TUNA (*Opuntia ficus-indica*)

Se denomina tuna al fruto del género *Opuntia* cuyo nombre específico *ficus* = higo; *indica*=de la India. Esta planta es originaria de México y de Perú donde es conocida y usada desde tiempos prehispánicos y desde allí se han distribuido en varios países del mundo. El fruto es ovalado con un pericarpio grueso, la pulpa es jugosa y dulce, y contiene numerosas semillas. (Fernández López J. & Almela L. 2001)

#### 2.1.2. BETALAINAS

Las betalainas o betainas son pigmentos que están presentes en la beterraga (*Beta vulgaris* L.), tuna morada (*Opuntia ficus-indica*) y frutos del color característico. Las Betalainas está compuesto por betacianinas de color rojo-purpura que representa entre 75- 95 % y las betaxantinas de color amarillo que pueden estar presentes en menores cantidades. Las Betalainas pueden sufrir una degradación progresiva, la cual se ve acelerada al aumentar el pH, la temperatura y la actividad del agua. (Parra Ortega ,2004).

#### 2.1.3. COLORANTES

Los colorantes son sustancias de origen químico o biológico, generalmente tintes, pigmentos, reactivos u otros compuestos, empleados en la coloración de fibras, alimentos, tejidos de microorganismos para exámenes microscópicos, etc. (Parra Ortega, 2004)

#### 2.1.4. COLORANTES ARTIFICIALES

Son colorantes elaborados por el hombre a través de procesos de síntesis química y que no existen por si mismos en la naturaleza. (Secco, 1994) Dentro de este grupo se encuentra los llamados, “Aditivos colorantes certificables o certificados”, y poseen las características de que cada lote debe ser analizado tanto por el fabricante como por la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA). Este proceso de aprobación, conocido como certificación de aditivos colorantes, resguarda la seguridad, calidad, consistencia y fuerza del aditivo

colorante previo a su uso en alimentos. (Estados Unidos, administración de comidas y bebidas, 1993)

Los colorantes artificiales son ampliamente usados debido a que su poder colorante es más intenso que el de los naturales, se requiere cantidades menores para lograr el mismo efecto de color. Además, estos colorantes son más estables, proveen mejor uniformidad de color y se mezclan más fácilmente, resultando en una amplia gama de tonalidades. (Estados Unidos, administración de comidas y bebidas, 1993)

Actualmente estos colorantes tienen como característica el que se absorben muy poco en el intestino, siendo destruidos por la flora bacteriana intestinal. Los restos de colorantes que no son asimilados se eliminan por vía urinaria.

A estos compuestos se les acusa de ser capaces de producir reacciones de sensibilidad en las personas alérgicas a la aspirina, aunque esto se ha demostrado solo en algunos casos para tartrazina. (Chile, instituto de estudios salud natural, 2001)

#### **2.1.5. COLORANTES NATURALES**

Los colorantes naturales son pigmentos extraídos de fuentes naturales tales como vegetales, minerales, o animales. Según la FDA, “aditivos colorantes exentos de certificación o no certificados”. (Estados Unidos, administración de comidas y bebidas, 1993)

Actualmente, hay un fuerte interés por los colorantes de origen natural. Esto en parte debido a la necesidad de aumentar la gama de colores y debido a que el hecho de ser naturales, son seguros de consumir. (Soukap & Maing, 1997)

Sin embargo, es importante mencionar que ya sea que se defina como natural o artificial, esto no asegura su inocuidad. Ambos tipos de colorante están sujetos a rígidos procesos de análisis para determinar su seguridad antes de su aprobación para uso en alimentos. (Parra Ortega, 2004)

#### **2.1.6. EXTRACCIÓN SÓLIDO-LÍQUIDO**

Operación unitaria en ingeniería química que consiste en remover un soluto soluble en un solvente. (R. Treybal. 1993).

### 2.1.7. SOLVENTE

Un solvente o disolvente es una sustancia en la que se diluye un soluto (un sólido, líquido o gas químicamente diferente), resultando en una solución; normalmente es el componente de una solución presente en mayor cantidad. Las consideraciones que se tienen que hacer al elegir un disolvente no solo con respecto a su transparencia, sino también respecto a sus posibles efectos sobre el sistema absorbente. (Holler F. ,1998)

### 2.1.8. FILTRACIÓN

Separación de las partículas sólidas de un líquido haciendo pasar la mezcla a través de un material que retiene partículas sólidas. (Vergara Hinostroza, 2013)

### 2.1.9. ESPECTROSCOPIA UV/VIS

La Espectroscopia es una de las técnicas experimentales más utilizadas para la detección específica de moléculas. Se caracteriza por su precisión, sensibilidad y su aplicabilidad a moléculas de distinta naturaleza (contaminantes, biomoléculas, etc). (Stintzing, 2002).

En algunos casos la espectroscopia UV puede ser fundamental para el estudio de ciertos problemas específicos. Por ejemplo, en la industria de los cosméticos, tintes, colorantes y pinturas. Desde el punto de vista del estudio estereoquímico y de grupos funcionales en una molécula orgánica, la espectroscopia UV no rivaliza con otras técnicas que tienen el mismo propósito, especialmente con la espectroscopia de Infra Rojo (IR) por las razones mencionadas anteriormente, sin embargo, su aplicación en la cuantificación de sustancias que absorben radiación UV la hacen una técnica insustituible.

Existe un gran número de técnicas para determinar sustancias que no tienen un número suficiente de grupos cromóforos para que la banda de absorción esté dentro del espectro Visible; por ejemplo, ácidos orgánicos, alcoholes, fenoles, aldehídos, cetonas, etc. Muchos de este tipo de compuestos muestran al menos una banda de absorción en el UV cercano y tomando como dato su longitud de onda de máxima absorbancia se pueden cuantificar en la misma forma en que se determina compuestos en espectroscopia Visible.

Es posible determinar un gran número de sustancias como son: ácido ascórbico, fructuosa, glicerol, ácido 1-glutámico, lactosa, galactosa, maltosa, glucosa, rafinosa, dsorbitol, etanol, ácido acético, etc. Estas técnicas analíticas son de múltiples aplicaciones en bioquímica general y bioquímica de alimentos, y esta es la razón de su importancia. (Holler F. ,1998)

## **2.1. MARCO TEÓRICO**

### **2.2.1. COLORANTES ALIMENTARIOS**

Son aditivos empleados en la producción de alimentos, la necesidad de usarlos a hecho imprescindible la búsqueda del equilibrio entre la seguridad de su ingesta y el beneficio tecnológico que entregan a los alimentos.

Los colorantes alimentarios son fundamentalmente usados en la elaboración de alimentos, ya sea por razones tecnológicas, o para satisfacer los requerimientos organolépticos de la población. Estos forman parte de alimento como un todo y mantienen una estrecha relación con el sabor, aroma y textura. (Secco, 1994)

Según el Reglamento Nacional Sanitario de Los Alimentos. (D.S. N° 977/96, 2000) en el artículo 67.- Queda prohibido el empleo de aditivos alimentarios que no estén comprendidos en la Norma General del Codex Alimentarius (GSFA) o que estando permitidos excedan sus límites máximos de uso. Tratándose de aromatizantes-saborizantes están, además, permitidos los aceptados por la administración de medicamentos y alimentos de los Estados Unidos de Norteamérica (FDA), la Unión Europea y la asociación de fabricantes de extractos y sabores (FEMA). En caso no existiese límites establecidos por la norma general del código alimentario (GSFA), la FDA o el FEMA se tomará en consideración lo indicado por la autoridad sanitaria nacional. En las instalaciones de las fábricas de alimentos y bebidas no podrá tenerse aditivos alimentarios no permitidos.

Artículo 133.- Sólo se permite la incorporación de un aditivo a un alimento si:

- a) Cumple con un fin tecnológico, tanto en la producción, elaboración, preparación, acondicionamiento, envasado, transporte o almacenamiento de un alimento.

- b) Contribuye a mantener la calidad nutritiva del alimento, previniendo la destrucción de componentes valiosos del mismo.

Artículo 134.- Se prohíbe el uso de un aditivo, en caso que:

- a) Disminuya sensiblemente el valor nutritivo del alimento al substituir un ingrediente importante o al posibilitar pérdidas de componentes nutritivos valiosos, salvo cuando se trate de alimentos para regímenes especiales.
- b) Permita disimular una calidad defectuosa o la aplicación de técnicas de elaboración o manipulación no permitidas.
- c) Induzca a engaño al consumidor sobre la cantidad o naturaleza del alimento, o al contralor, por contribuir a falsear los resultados del análisis.

Artículo 145.- Se permite usar como sustancias colorantes sólo las que se señalan en el presente artículo. Para los efectos de rotulación se deberá emplear el nombre, según el Códex Alimentarius, señalado en las siguientes tablas:

**Tabla 1.** Colorantes artificiales

NOMBRE	SINONIMO	S.I.N.	COLOR INDEX
Amarillo crepúsculo (bajo rotulación destacada)	Amarillo ocaso, amarillo Naranja S	110	15958
Amarillo de quinoleina	-----	104	47005
Tartrazina (bajo rotulación destacada)	-----	102	19140
Azul brillante	-----	133	42090
Azul patente V	-----	131	42051
Indigotina	Indigo carmín	132	73015
Azorrubina	Carmoisina	122	14720
Ponceau 4R	Rojo de cochinilla	124	16035
Allura red AC	Rojo 40	129	16035
Café HT	-----	156	20285
Negro Brillante BN	-----	151	28440
Beta Caroteno sintético	-----	160	40800
Verde FCF Verde sólido	FCF	143	
Eritrosina (1)	-----		

**Fuente:** Reglamento Nacional Sanitario de los Alimentos.

S.I.N.: Sistema Internacional de Numeración

COLOR INDEX: Índice Internacional del Color

**Tabla 2.** Colorantes naturales y derivados

NOMBRE	SINÓNIMO	S.I.N.	COLOR INDEX
Annato	achiote, rocú o bija (bixina y norbixina)	160 b	
Antocianos	---	163	
Apocarotenal	Beta-apo-8' carotenal	160e	40820
Astaxantina	3,3'-dihidroxi-beta-caroteno-4,4'-diona	160	
Betaina o Belalaina	Rojo de betarraga	162	
Cantaxantina	Beta-caroteno-4,4'-diona	161 g	40850
Carmín de cochinilla	Ácido carmínico	120	75470
Caramelo (1)	---	150	
Carbón vegetal (2)	---	153	
Carotenos alfa, beta y gama	---	160 a	75130
Clorofila	---	140	75810
Clorofila y sus sales de cobre	---	141	
Cúrcuma	Curcumina	100	75300
Ester etílico del ácido beta-apo-8' carotenoico	---	160 f	40825
Dióxido de titanio	---	171	77891
Oleo-resinas del pimentón	---	160 c	
Riboflavina	---	101	
Aluminio (polvo) (3)	---	173	
Luteína	---	161	

**Fuente:** Reglamento Nacional Sanitario de los Alimentos

S.I.N.: Sistema Internacional de Numeración

COLOR INDEX: Índice Internacional del Color

(1): Máximo 1.000 mg/kg de 4-metilimidazol

(2): Uso según farmacopea

(3): sólo para decoraciones

Tanto los colorantes artificiales como los pigmentos naturales poseen ventajas y desventajas que deben de tomarse en cuenta para su uso en la industria de alimentos. Aunque los colorantes artificiales brindan un color más llamativo que los pigmentos naturales no hay que perder de vista el daño en la salud de los consumidores que pudieran ocasionar.

**Tabla 3.** Ventajas y desventajas del uso de colorantes naturales y artificiales

COLORANTES	VENTAJAS	DESVENTAJAS
Artificiales	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mayor poder tintóreo.</li> <li>• Mayor estabilidad en las condiciones de procesado y almacenamiento.</li> <li>• Solubles en agua</li> <li>• Insolubles en agua (lacas)</li> <li>• Presentación líquida y sólida.</li> </ul>	Producen efectos en la salud como alergias, cáncer, hiperactividad y déficit de atención en niños.
Naturales	No producen efectos en la salud.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Carecen de fuerza tintórea.</li> <li>• Aportan sabores no deseados al producto.</li> </ul>

**Fuente:** Reglamento Nacional Sanitario de los Alimentos.

### 2.2.2. TUNA (*Opuntia ficus – indica*)

#### a) Taxonomía

De acuerdo al sistema de clasificación botánica de A. Cronquist, se ubica en la siguiente categoría taxonómica (Mostacero L.J., Mejía C.F. y Gamarra 2002.)

REINO	:	Plantae
DIVISION	:	Magnoliophyta
SUBREINO	:	Tracheobionta
CLASE	:	Magnoliopsida
SUBCLASE	:	Caryophyllidae
ORDEN	:	Caryophyllales
FAMILIA	:	Cactaceae
GÉNERO	:	Opuntia
ESPECIE	:	<i>Opuntia ficus-indica</i>

#### b) Origen

Su centro de origen se encuentra en la estribación oeste de los Andes del Perú y Bolivia, y en la Meseta Central de México, de estos lugares se ha



esparcido el cultivo a otros países, especialmente España, Italia y Australia. (Pulgar J. ,1992)

### c) Nombres Comunes

La tuna es conocida como prickly pear, cactus pear, cactus fruti en Estados Unidos; fico d' India (Sicilia), figo morisca (Cerdeña), figo della barbarie en Italia; higo en España; chumbo en Francia; tzabar en Israel; kaktusfeigen en Alemania; turksupurug en Sudáfrica, nopal en México y tuna en Perú y Latinoamérica, (Pulgar J. ,1992)

### d) Descripción botánica

La *Opuntia ficus – indica* (L.) Miller “tuna” es sin duda el cactus más conocido, son plantas arbustivas a arborescentes, de 1,70 m – 3,0 m de altura, con tallo primario lignificado, bien definido, castaño oscuro, verde o gris, cladodios usualmente elípticos, circulares, oblongos o romboidales con espinas, hasta 10 flores por cladodio, fruto esférico, cilíndrico o elíptico, amarillo o rojo, pulposa, jugosa y dulce, semillas duras, lenticulares, de 200 a 300 por fruto. (Pulgar J. ,1992).

- **Tallo:** En el Perú las variedades más usuales desarrollan portes de aproximadamente 1,5 a 2,00 m de altura. El tallo, a diferencia de otras especies de cactáceas, está conformado por un tronco y ramas aplanadas que posee cutícula gruesa de color verde de función fotosintética y de almacenamiento de agua en los tejidos.
- **Cladodios:** miden de 30 a 60cm de largo x 20 a 40cm de ancho y de 2 a 3 cm de espesor.
- **Hojas:** transformadas en espinas en forma de garra, engrosadas en su base, para defensa.
- **Fruto:** Es de forma ovoide esférica de color verde y toma diferentes colores cuando maduran, son comestibles, agradables y dulces; la pulpa es gelatinosa conteniendo numerosas semillas, sus dimensiones y coloración varían según la especie; presentan espinas finas y frágiles de 2 a 3 mm de longitud.
- **Pulpa:** se compone mayoritariamente de agua (83%). De variados colores como blanco, rojo, verde, anaranjado, púrpura y rojo.

- **Cáscara:** corresponde al 40-50% del fruto, por lo que a menor peso de esta, mayor será la calidad del fruto. Durante la primera semana después de floración es mayor el crecimiento de la cáscara que el del tejido que origina la pulpa, situación que luego se revierte y el lóculo empieza a expandirse, especialmente los últimos 30 días del desarrollo del fruto, por lo que es fundamental el aporte hídrico en esta etapa. Las semillas son de forma discoidal, poseen testa reticulada y arilo lateral angosto. Se encuentran de 100 a más de 400 semillas por fruto, con diámetro de 3 a 4 mm.



**Figura 1.** Fruto de *Opuntia ficus – indica* (L.) Miller “tuna”

**Fuente:** Lock (1997).

#### e) **Producción Nacional**

En nuestro país la producción de tuna se da principalmente en los departamentos de Ayacucho, Huancavelica, Lima y Cusco. El área total de producción es muy variable, estimándose en unas 10,000 hectáreas aproximadamente. Se exporta principalmente a países como España, Inglaterra, Dinamarca y Suiza.

**Tabla 4.** Producción de *Opuntia ficus – indica* (L.) Miller “tuna” en el Perú – Año 2014

Región nacional	Producción (miles de toneladas métrica)
Pasco	44
Junín	201
Ica	233
Huánuco	261
Tacna	589
Lima Metropolitana	619
Cajamarca	627
La Libertad	1 193
Moquegua	2 203
Ancash	2 517
Apurímac	6 862
Arequipa	7 404
Huancavelica	8 383
Lima	12 436
Ayacucho	15 907
Cuzco	24 944
<b>TOTAL</b>	<b>84 423</b>

**Fuente:** Ministerio de agricultura y riego 2014

**f) Composición química de la tuna**

La composición química de la *Opuntia ficus – indica* “tuna” consiste de 85 % de agua, 14 % de azúcares y de 1 % de proteína. En la pulpa los compuestos bioactivos encontrados en mayor cantidad son la vitamina C, vitamina E y polifenoles; algunos aminoácidos que se presentan en la pulpa son la prolina, la glutamina y en mayor cantidad la taurina. Además, tiene altas cantidades de minerales como calcio y magnesio.

**Tabla 5.** Análisis Bromatológico de *Opuntia ficus- indica* “tuna”

Análisis	Resultado
Humedad	85 - 90%
Cenizas	0,25 - 0,44%
Proteína	0,75 - 5,41%
Grasa bruta	0.12 - 0.25%
Carbohidratos	19%
Fibra cruda	0,02%

**Fuente:** Gerencia Regional Agraria La Libertad (2009)

**Tabla 6.** Composición química de la pulpa de *Opuntia ficus - indica* (L.) Miller “tuna”

Parámetros	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
Humedad	85,1	91,0	85 -90	85,6	83,8	84,2
Proteínas	0,8	0,8	1,4 - 1,6	0,21	0,82	0,99
Grasas	0,7	0,1	0,5	0,12	0,09	0,24
Fibra	0,1	0,2	2,4	0,02	0,23	3,16
Ceniza	0,4	-	-	0,44	0,44	0,51
Azúcar total	-	8,1	10 -17	12,8	14,06	10,27
vitamina C (mg/100g)	25,0	22,0	4,6 - 41	22,00	20,33	22,56
B-caroteno (mg/100g)	-	-	trazas	trazas	0,53	-

**Fuente:** Boletín de Servicios Agrícolas de la FAO (2006)

Nota: **(1)** Askar y El-Samahy (1981); **(2)** Muñoz de Chavez *et al.* (1995); **(3)** Pimienta (1990); **(4)** Sawaya *et al.* (1983); **(5)** Sepulveda y Saenz (1990); **(6)** Rodriguez *et al.* (1996).

**Tabla 7.** Composición mineral de la pulpa de *Opuntia ficus – indica* (L.) Miller

Mineral	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
Ca	24,4	49,0	27,6	12,8	-
Mg	98,4	85,0	27,7	16,1	-
Fe	-	2,6	1,5	0,4	-
Na	1,1	5,0	0,8	0,6	1,64
K	90,0	220	161	217,0	78,72
P	28,2	-	15,4	32,8	-

**Fuente:** Boletín de Servicios Agrícolas de la FAO (2006)

Nota: **(1)** Askar y El-Samahy (1981); **(2)** Muñoz de Chavez *et al.* (1995).**(3)**Sawaya *et al.* (1985); **(4)** Sepulveda y Saenz (1990); **(5)** Rodriguez *et al.* (1996).

**Tabla 8.** Composición químico bromatológico de la cáscara de *Opuntia ficus – indica* (L.) Miller “tuna”, en muestra fresca y muestra seca.

DESCRIPCIÓN	Muestra fresca	Muestra seca
Humedad (g%)	88,46	--
pH	5,7	--
Proteínas totales (g%)	1,08	--
Grasas (g%)	0,19	1,51
Carbohidratos (g%)	9,28	--
Cenizas (g%)	0,99	--
Fibra cruda (g%)	0,22	1,69
Acidez titulable *	0.053	--
A.R.D. (g/% glucosa) **	2,40	--
A.R.T. (g/% glucosa) ***	3,11	--
Energía total (Kcal/100g de muestra)	43,15	--

**Fuente:** Gerencia Regional Agraria La Libertad (2009)

\* En forma de ácido cítrico

\*\* A.R.D: Azúcares reductores directos

\*\*\* A.R.T: Azúcares reductores totales

**Tabla 9.** Principales minerales de la cáscara de *Opuntia ficus – indica* (L.) Miller “tuna”, en muestra fresca y seca.

DESCRIPCIÓN	Muestra fresca (mg)	Muestra seca(mg)
Na	0.31	2.77
P	0.32	2.76
Mg	1.28	11.05
Ca	6.05	52.50
K	10.52	91.16
Fe	0.0032	0.0277
Cu	0.0067	0.0581
Zn	0.0110	0.0953

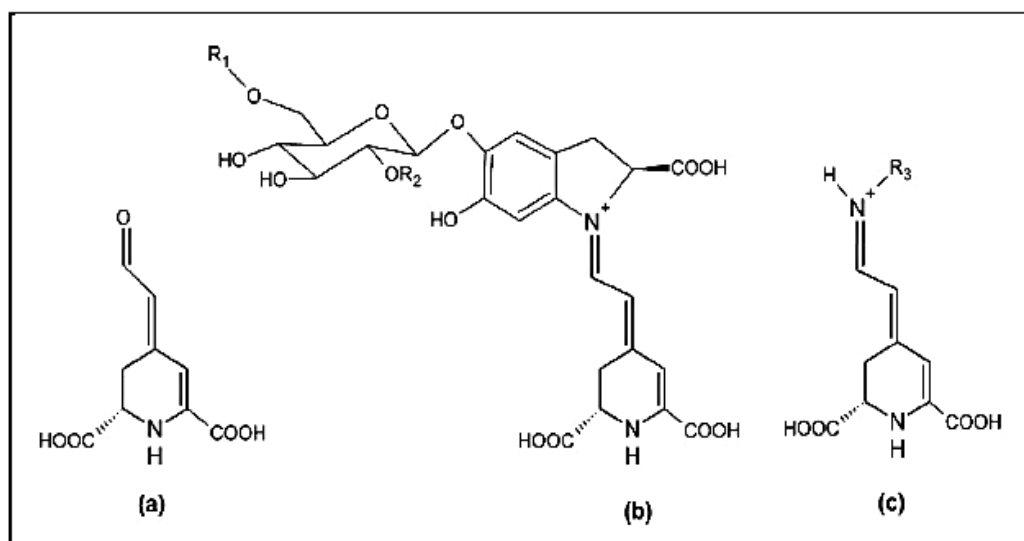
**Fuente:** Gerencia Regional Agraria La Libertad (2009)

### g) Compuestos Bio activos de la tuna

La especie *Opuntia ficus-indica* se caracteriza por tener frutos dulces, jugosos, de distintos colores (púrpura, rojo, anaranjado o amarillo), con

abundante pulpa, numerosas semillas y cáscara generalmente delgada, cubierta de pequeños grupos de espinas.

En el ecotipo púrpura los pigmentos responsables del color son las betalainas, los cuales derivan del ácido betalámico (a) y son solubles en agua. Dentro de las betacianinas de la tuna púrpura (*Opuntia ficus-indica*) se han identificado principalmente la betanina (b) y en menores niveles la isobetanina. Dentro de las betaxantinas se ha identificado sólo la indicaxantina (c). betacianinas y betaxantinas se encuentran presentes tanto en la cáscara como en la pulpa del fruto.



**Figura 2.** Estructura general del ácido betalámico (a), betacianina (b) y betaxantina (c)

**Fuente:** Lock (1997).

### 2.2.3. BETALAINAS

Las betalainas son compuestos orgánicos solubles en agua, como fórmula química  $C_{24}H_{27}N_2O_{13}$  y masa molar 550 g/mol. La estructura de las betalainas es diferente a la de otros pigmentos encontrados en el reino vegetal, ya que esta contiene nitrógeno. A la fecha se conocen alrededor de 50 betacianinas y de 25 betaxantinas y todas ellas poseen la misma estructura básica (Lock, 1997).

Entre las hortalizas comunes que contienen betalainas está la remolacha roja (*betabel*). También se han encontrado en algunas especies de amaranto (*Amaranthus sp.*), flores de bugambilia y en algunas especies de hongos

*Amanita*, *Hygrocybe*<sup>35</sup> e *Hygrosporus*<sup>36</sup>, *Amanita muscaria*; en algunos frutos de cactáceas como la tuna, el garambullo y en flores del cactus de navidad.

### 2.2.3.1. Clasificación de las betalainas presentes en la tuna (*Opuntia ficus-indica*)

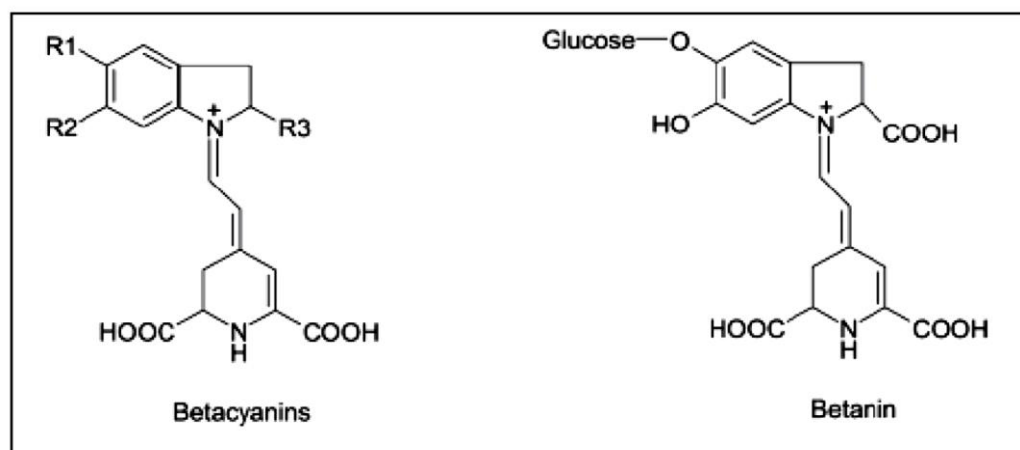
Se clasifican principalmente en dos grupos:

#### a) Betacianinas

Las Betacianinas son responsables del color rojo-púrpura, el ácido betalámico está unido al grupo 3,4- dihidroxifenilalanina (DOPA), su principal componente es la betanina que se isomeriza fácilmente a isobetanina por calentamiento. En medio alcalino se hidroliza produciendo ciclodopa – 5 – 0 – glicósido y ácido betalámico.

Todas las betacianinas pueden ser derivadas de dos núcleos básicos, la betanidina y la isobetanidina, por glicosidación de uno de los grupos hidroxilos localizados en la posición cinco o seis.

En las betacianinas, la conjugación se extiende a un sustituyente aromático y el cromóforo muestra un desplazamiento batocrómico a 535 - 550 nm de longitudes de onda.



**Figura 3.** Estructura química de las betacianinas *Opuntia ficus – indica* (L.) Miller

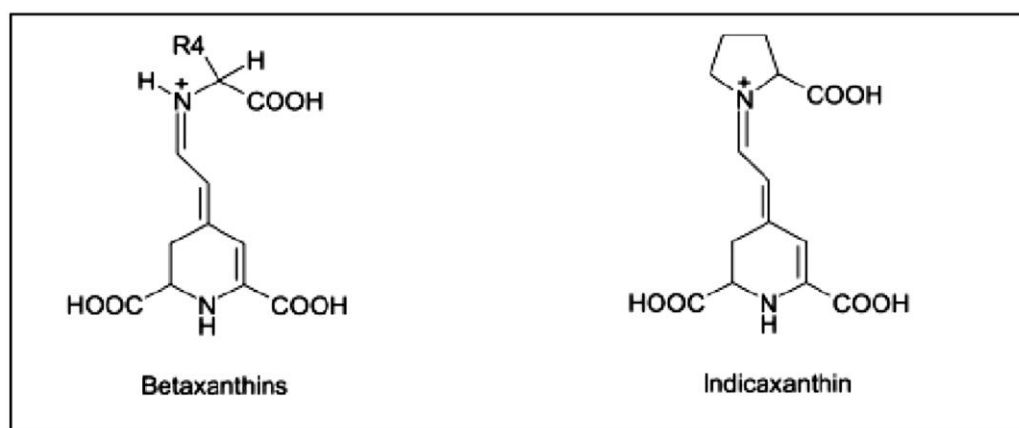
**Fuente:** Lock (1997).



## b) Betaxantinas

Son pigmentos amarillos-anaranjado relacionados estructuralmente con las betacianinas, absorben a una longitud de onda máxima de 475- 483 nm. El compuesto prototipo que representa la presencia natural de betaxantinas es la indicaxantina, aislada del fruto del cactus *Opuntia ficus – indica*, su aislamiento y análisis estructural confirmo la sospecha de una relación estructural entre las dos clases de pigmentos de las cactáceas

Las betaxantinas, han sido poco estudiadas, debido principalmente a que son más difíciles de aislar, pero se tienen indicios de que son mucho más lábiles que las betacianinas (Lock, 1997).



**Figura 4.** Estructura química de las betaxantinas en *Opuntia ficus – indica*  
**Fuente:** Lock (1997).

## 2.2.4. ESTABILIDAD DE LAS BETALAINAS

### 2.2.4.1. Factores que afectan la estabilidad de las betalaínas

La estabilidad es un factor importante a considerar para la utilización de estos pigmentos como colorantes y/o antioxidantes en alimentos. Se ha establecido que los principales factores que influyen en la estabilidad de las betalaínas son:

#### a) Temperatura

La degradación de las betalaínas depende de la temperatura y sigue una cinética de reacción de primer orden, dependiente del pH.<sup>16</sup> Si bien, el color de la betalaina se mantiene, se produce un efecto hipsocrómico al desplazar el pico de absorción de 538 a 550 nm, lo que resulta en un color naranja-rojo.<sup>15</sup> La deshidrogenación e hidrólisis de la betanina e isobetanina genera un color



amarillo brillante, obteniéndose producto de la hidrólisis el ácido betalámico y ciclodopa-5- O-glucósido.

### b) pH

Las betalaínas son estables en el rango de pH entre 3,5-7, rango en el que se encuentran la mayoría de los alimentos, fuera de este rango el color decrece. El pH óptimo para la máxima estabilidad de la betacianina y betaxantina en presencia de oxígeno está entre 5-7.

La estabilidad de las betalainas está influenciado por el pH, para la betanina se ha determinado que a:

- pH 3 a 7: el color rojo de la solución permanece inalterado con un  $\lambda$  máx de absorción entre 537–538 nm.
- pH < 3: el color cambia a violeta y el  $\lambda$  máx es desplazado a 534–536 nm, ocurriendo un decrecimiento en la intensidad.
- pH > 7: el color de la solución se hace más azulado, habiendo un desplazamiento batocrómico en el  $\lambda$  máx, siendo mayor el efecto a pH 9 donde el  $\lambda$  máx ocurre a 543-544 nm.
- pH > 10: hay un decrecimiento en intensidad en el  $\lambda$  máx de 54550 nm y hay incremento en la absorción a 400-460 nm debido a la liberación del ácido betalámico, el cual es amarillo; por lo que hay un cambio de color azul a amarillo como resultado de la hidrólisis alcalina de betanina a ácido betalámico y ciclodopa-5-0-glucosido (Lock, 1997).

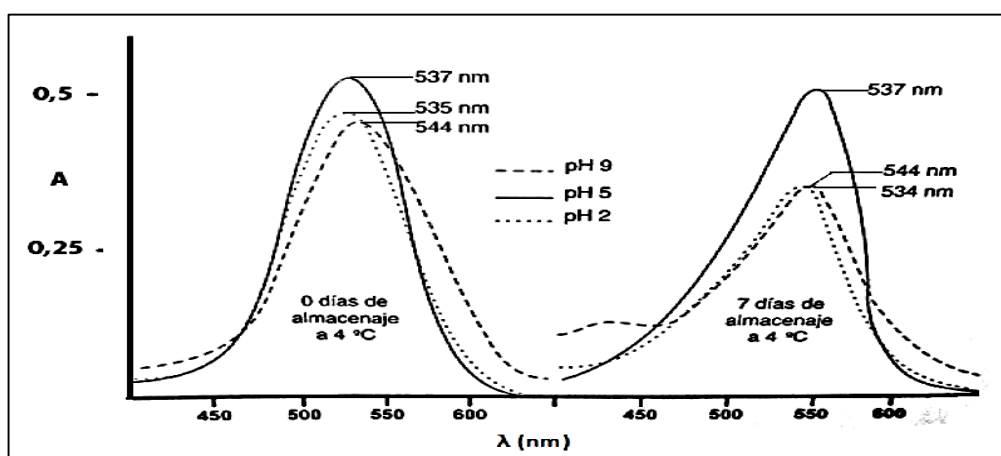


Figura 5. Espectro de la betanina a pH 2, 5 y 9.

Fuente: Lock (1997).

**c) Actividad de agua (aw).**

Las betalaínas presentan mayor estabilidad en alimentos o sistemas modelo con un bajo contenido de humedad y aw, debido a que el agua está menos disponible para que ocurran reacciones químicas.

**d) Luz:**

Existe una relación inversa entre la estabilidad de las betalaínas de betarraga y la exposición a la luz. La degradación de betalaínas sigue una cinética de primer orden que es oxígeno dependiente, ya que los efectos de la exposición a la luz son insignificantes bajo condiciones anaerobias.

**e) Oxígeno:**

Las betalainas son severamente afectadas por el oxígeno; la reacción entre betalainas y oxígeno molecular parece ser una de las principales causas de la pérdida del pigmento. Se ha observado que el oxígeno causa un oscurecimiento del producto y la pérdida de la capacidad colorante. La sensibilidad de la betanina al oxígeno sugiere la posibilidad de emplear antioxidantes que mejoren la estabilidad como el ácido ascórbico e isoascórbico. (Lock, 1997).

**2.2.4.2. Betalainas como aditivo alimentario**

Dado que existen restricciones de tipo legal en el uso de colorantes rojos sintéticos, se ha sugerido emplear las betalainas en diversos alimentos. Los estudios de toxicidad y seguridad indican que las betalainas pueden ser alternativas viables para colorantes sintéticas. Sin embargo, por las limitaciones de su estabilidad, su uso se restringe a ciertos productos en los que el pigmento se conserva más fácilmente. (Reynoso, 1997)

Se ha sugerido aplicar las betalainas en la elaboración de productos cárnicos embutidos, debido a que los nitritos causan controversia por su implicación en la síntesis de nitrosaminas, se considera que la mezcla de betalainas y sorbato de potasio pueden sustituirlos. En embutidos con carne de pollo, el color producido por las betalainas es más estable que el que producen los nitritos, y el sabor y la textura no se alteran (Vereltzis 1984, Badui, 1993).

Los sólidos del betabel o betanina en forma aislada que se usan como colorantes se conservan añadiendo antioxidantes y agentes secuestradores. El colorante es fácilmente soluble en agua, es razonablemente estable cuando es usado a pH entre 4 y 7 y es adecuadamente estable a la luz. Sin embargo es degradado fácilmente a temperaturas superiores a 50 °C, particularmente cuando es expuesto a aire o luz; es más estable al calor a pH entre 4 y 5. Por estas propiedades, las betalainas son usadas en alimentos que reciban mínimo tratamiento térmico durante el procesado (cuando el tratamiento es necesario la degradación del colorante es minimizada por la adición de éste después o cerca de final del tratamiento), tengan baja actividad de agua y sean empacados minimizando la exposición a la luz, oxígeno y humedad. Por todo lo anterior las betalainas tienen aplicación en productos cárnicos, dulces, yogurts, helados, confiterías, mayonesas, gelatinas y producto secos. Es adicionando en niveles de 0,1 a 1 % basado en el peso del producto final (Marmi3n, 1991).

#### **2.2.4.3. Comercializaci3n y uso de las betalainas**

Desde hace alg3n tiempo se ha aceptado el uso de las betalainas del betabel como colorantes naturales para alimentos. En los 3ltimos a3os, dada la prohibici3n de los colorantes rojos sint3ticos, ha aumentado su demanda, lo que motiv3 que muchas compa3as, en diferentes pa3ses, se dediquen a la venta de colorantes de betabel. En general existen tres presentaciones:

##### **a) Polvo de betabel**

Preparado a partir del betabel completo, secado y molido. Estos productos no son completamente solubles por contener la pulpa completa, pero tienen buena capacidad para te3nir; esta es la presentaci3n m3s econ3mica.

##### **b) Concentrados de colorantes de betabel**

En forma de un l3quido de alta viscosidad que contiene entre 40 y 60 % de s3lidos totales. Se obtienen por evaporaci3n al vac3o de los extractos acuosos del betabel.

##### **c) Polvo de colorantes del betabel**

Obtenido por secado por aspersion (spray-dried) de un concentrado del extracto acuoso.

Las tres presentaciones están en la lista de colorantes aceptadas para su uso en alimentos en Estados Unidos desde 1960 y no necesitan certificación (Villegas et al., 1983).

A pesar de las limitaciones que presentan las betalainas debido a su estabilidad, las preparaciones de betabel son usadas para dar color a productos que tengan corto tiempo de almacenamiento, empacados en reducida exposición a la luz, oxígeno y alta humedad, no sean sometidos a largos tratamientos térmicos y además, sean vendidos en estado seco.

En diversos estudios se ha encontrado que las betalainas pueden llegar a sustituir a algunos colorantes rojos sintéticos en productos alimentarios (Villegas et al., 1988):

- **Alimentos secos:** Sopas secas (tomate), mezclas de especias, aderezos para ensaladas.
- **Alimentos enlatados:** Jitomate enlatado, salsa catsup, salsa para pizzas; frutas enlatadas como cerezas, fresas y algunos vegetales.
- **Productos cárnicos:** Salchichas, hamburguesas, bologna, etc.
- **Productos lácteos:** Helados, yogurt, malteadas y relleno de frutas.
- **Postres y dulces:** Jaleas y mermeladas, pasteles de sabor a cereza y cerezas en almíbar.

#### 2.2.5. PARÁMETROS DE ANÁLISIS SENSORIAL DE LOS ALIMENTOS.

El análisis sensorial de los alimentos es un instrumento eficaz para el control de calidad y aceptabilidad de un alimento, ya que cuando ese alimento se quiere comercializar, debe cumplir los requisitos mínimos de higiene, inocuidad y calidad del producto, para que éste sea aceptado por el consumidor, más aún cuando debe ser protegido por un nombre comercial los requisitos son mayores, ya que debe poseer las características que justifican su reputación como producto comercial.

La herramienta básica o principal para llevar a cabo el análisis sensorial son las personas, en lugar de utilizar una máquina, el instrumento de medición es el ser humano, ya que el ser humano es un ser sensitivo, sensible, y una máquina no puede dar los resultados que se necesitan para realizar una evaluación efectiva.

Para llevar a cabo el análisis sensorial de los alimentos, es necesario que se den las condiciones adecuadas (tiempo, espacio, entorno) para que éstas no influyan de forma negativa en los resultados, los catadores deben estar bien entrenados, lo que significa que deben de desarrollar cada vez más todos sus sentidos para que los resultados sean objetivos y no subjetivos.

El sistema sensitivo del ser humano es una gran herramienta para el control de calidad de los productos de diversas industrias. En la industria alimentaria la vista, el olfato, el gusto y el oído son elementos idóneos para determinar el color, olor, aroma, gusto, sabor y la textura quienes aportan al buen aspecto y calidad al alimento que le dan sus propias características con los que los podemos identificar y con los cuales podemos hacer un discernimiento de los mismos.

#### **a) El olor**

Es la percepción por medio de la nariz de sustancias volátiles liberadas en los alimentos; dicha propiedad en la mayoría de las sustancias olorosas es diferente para cada una. En la evaluación de olor es muy importante que no haya contaminación de un olor con otro, por tanto los alimentos que van a ser evaluados deberán mantenerse en recipientes herméticamente cerrados.

#### **b) El aroma**

Consiste en la percepción de las sustancias olorosas y aromáticas de un alimento después de haberse puesto en la boca. Dichas sustancias se disuelven en la mucosa del paladar y la faringe, llegando a través del eustaquio a los centros sensores del olfato. El aroma es el principal componente del sabor de los alimentos, es por eso que cuando tenemos gripe o resfriado el aroma no es detectado y algunos alimentos sabrán a lo mismo. El uso y abuso del tabaco, drogas o alimentos picantes y muy condimentados, insensibilizan la boca y por ende la detección de aromas y sabores.

#### **c) El gusto**

El gusto o sabor básico de un alimento puede ser ácido, dulce, salado, amargo, o bien puede haber una combinación de dos o más de estos. Esta propiedad es detectada por la lengua. Hay personas que pueden percibir con mucha agudeza un determinado gusto, pero para otros su percepción es pobre

o nula; por lo cual es necesario determinar que sabores básicos puede detectar cada juez para poder participar en la prueba.

#### **d) El sabor**

Esta propiedad de los alimentos es muy compleja, ya que combina tres propiedades: olor, aroma, y gusto; por lo tanto su medición y apreciación son más complejas que las de cada propiedad por separado. El sabor es lo que diferencia un alimento de otro, ya que si se prueba un alimento con los ojos cerrados y la nariz tapada, solamente se podrá juzgar si es dulce, salado, amargo o ácido. En cambio, en cuanto se perciba el olor, se podrá decir de que alimento se trata. El sabor es una propiedad química, ya que involucra la detección de estímulos disueltos en agua aceite o saliva por las papilas gustativas, localizadas en la superficie de la lengua, así como en la mucosa del paladar y el área de la garganta. Estas papilas se dividen en 4 grupos, cada uno sensible a los cuatro sabores o gustos:

- **PAPILASIFORMES:** Localizadas en la punta de la lengua sensible al sabor dulce.
- **FUNGIFORMES:** Localizada en los laterales inferiores de la lengua, detectan el sabor salado.
- **CORALIFORMES:** Localizadas en los laterales posteriores de la lengua, sensible al sabor ácido.
- **CALICIFORMES:** Localizadas en la parte posterior de la cavidad bucal detectan sabor amargo.

Por ello es importante en la evaluación de sabor la lengua del juez esté en buenas condiciones, además que no tenga problemas con su nariz y garganta. Los jueces no deben ponerse perfume antes de participar en las degustaciones, ya que el olor del perfume puede inferir con el sabor de las muestras.

#### **f) La textura**

Es la propiedad apreciada por los sentidos del tacto, la vista y el oído; se manifiesta cuando el alimento sufre una deformación. La textura no puede ser percibida si el alimento no ha sido deformado; es decir, por medio del tacto podemos decir, por ejemplo si el alimento está duro o blando al hacer presión

sobre él. Al morderse una fruta, más atributos de textura empezarán a manifestarse como el crujido, detectado por el oído y al masticarse, el contacto de la parte interna con las mejillas, así como con la lengua, las encías y el paladar nos permitirán decir de la fruta si presenta fibrosidad, granulosidad, etc.

## **2.2.5. MÉTODOS DE IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE BETALAINAS**

### **2.2.5.1. Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)**

La cromatografía líquida de alta resolución es uno de los mejores métodos para el análisis de tintes naturales, pues a partir de muestras del orden de miligramos (hebras de tejido), en condiciones adecuadas permite la separación de los constituyentes de la mezcla tintórea, la identificación y eventual determinación de las cantidades relativas, lo que puede conducir a información precisa sobre el origen de la sustancia colorante. La cual permite realizar conjuntamente un análisis cualitativo y cuantitativo.

### **2.2.5.2. La espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN)**

La Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear es una técnica empleada principalmente en la elucidación de estructuras moleculares, aunque también se puede emplear con fines cuantitativos y en estudios cinéticos y termodinámicos.

Algunos núcleos atómicos sometidos a un campo magnético externo absorben radiación electromagnética en la región de las frecuencias de radio o radiofrecuencias. Como la frecuencia exacta de esta absorción depende del entorno de estos núcleos, se puede emplear para determinar la estructura de la molécula en donde se encuentran estos. (Lock, 1997)

### **2.2.5.3. Espectrofotometría UV/VIS**

La espectroscopia uv-visible es una de las técnicas más ampliamente y frecuentemente empleadas en el análisis químico. Se basa en el análisis de la cantidad de radiación electromagnética (en el rango de longitudes de onda del ultravioleta y visible) que puede absorber o transmitir una muestra en función de la cantidad de sustancia presente.



La base de la espectroscopia Visible y Ultravioleta consiste en medir la intensidad del color (o de la radiación absorbida en UV) a una longitud de onda específica comparándola con otras soluciones de concentración conocida (soluciones estándar) que contengan la misma especie absorbente. Para tener esta relación se emplea la Ley de Beer, que establece que para una misma especie absorbente en una celda de espesor constante, la absorbancia es directamente proporcional a la concentración.

La coloración de la solución se debe a la especie absorbente y esta coloración puede ser natural o inducida. La coloración natural puede ser la base de la cuantificación de una especie.

Todas las técnicas de absorción suponen que cuando una radiación incide sobre una muestra se produce una absorción parcial de esta radiación, lo que hace que se produzca una transición entre los niveles energéticos de la sustancia: átomo, molécula o ión, X, pasando esta al estado excitado, X\*, el resto de radiación es transmitida. Así analizando una u otra podemos relacionar la cantidad de especie activa presente en la muestra, la absorbancia es directamente proporcional a la concentración.

**Tabla 10.** Regiones del espectro Ultravioleta y visible y sus rangos o zonas comprendidas.

Rango de longitudes de Onda (nm)	Color absorbido	Color Transmitido (Observado)
100-190	Ultravioleta del vacío	Ninguno
190-380	Ultravioleta Cercano	Ninguno
380-435	Violeta	Amarillo-Verde
435-480	Azul	Amarillo
480-500	Verde-Azul	Naranja-Rojo
500-560	Verde	Púrpura
560-580	Amarillo-Verde	Violeta
580-595	Amarillo	Azul
595-650	Naranja	Verde-Azul
650-780	Rojo	Azul-Verde

**Fuente:** Holler F. (1998)

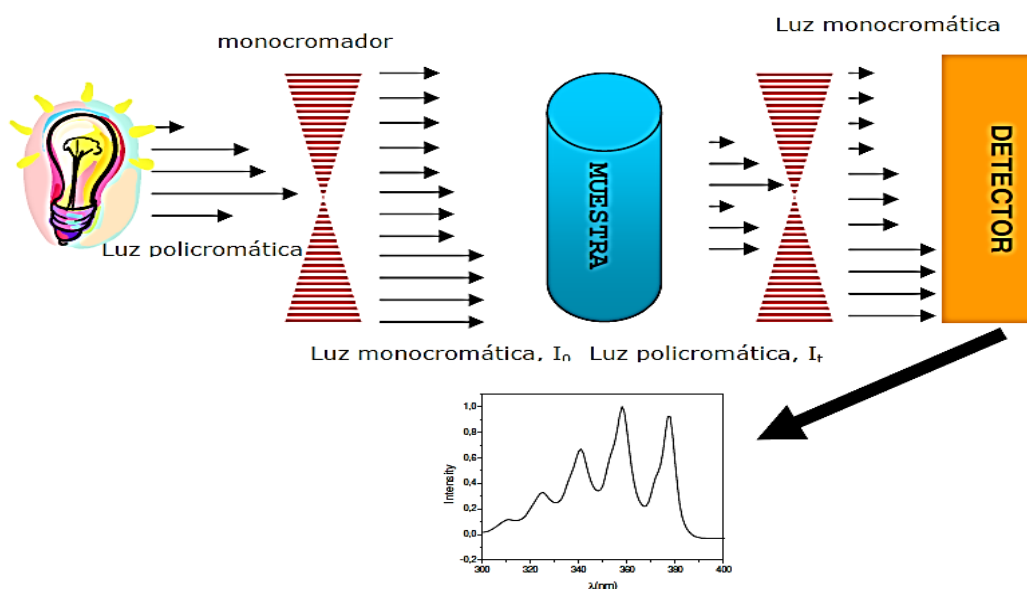
La radiación electromagnética se puede ordenar en un espectro que se extiende desde ondas de frecuencias muy elevadas (longitudes de onda pequeñas; rayos gamma) hasta frecuencias muy bajas (longitudes de onda altas; ondas de radio). La luz UV-visible es sólo una pequeña parte del espectro electromagnético, visible (780-380nm); UV (380-200nm).



### 2.1.9.1. Componentes de un espectrofotómetro UV/VIS

Espectrofotómetro Consta de los siguientes partes:

- **Fuente de luz:** Suele ser una lámpara que emite una luz (por incandescencia de un filamento) policromática, es decir que contiene distintas longitudes de onda con distintas intensidades  $I_0$ .
- **Sistema óptico:** A través de filtros, lentes y redes de difracción se focaliza el haz de luz y se selecciona una longitud de onda fija.
- **Compartimiento muestra:** Es donde se coloca la muestra, con un espesor conocido, normalmente disuelta y en una cubeta de 1cm de paso óptico, sobre la que se hace incidir el haz de luz monocromática
- **Sistema óptico:** Recibe la luz transmitida por la muestra, la focaliza y selecciona por longitudes de onda
- **Detector:** Recibe la señal de la intensidad de la luz transmitida a cada longitud de onda y la transforma en señal eléctrica que un ordenador pueda procesar.



**Figura 5.** Componentes de un espectrofotómetro

**Fuente:** Holler F. (1998)

**2.2.6. LEY DE LAMBERT-BEER**

Ley de Lambert-Beer nos permiten relacionar la fracción de radiación absorbida con la concentración del analito y el espesor del medio. Se cumple para cualquier proceso de absorción en cualquier zona del espectro y se basa en que cada unidad de longitud a través de la cual pasa la radiación absorbe la misma fracción de radiación.

Si tenemos un haz de luz monocromática, “ $I_o$ ”, que pasa a través de un material de espesor, “ $l$ ”, la disminución de la intensidad de luz transmitida, “ $I_t$ ”, será proporcional al camino recorrido y a la concentración de la sustancia absorbente, “ $c$ ”.

$$I = I_o e^{-\epsilon.l.c} \dots\dots\dots (2-1)$$

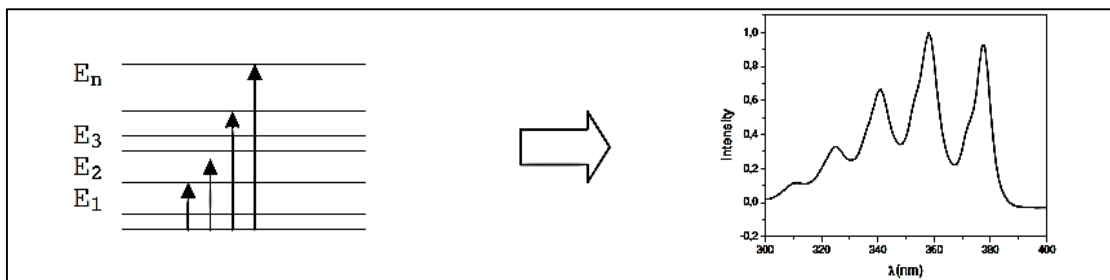
El factor de proporcionalidad, “ $\epsilon$ ”, se denomina absortividad molar (coeficiente de extinción molar) y está relacionado con la probabilidad de absorción de radiación por parte de la sustancia en análisis.

Tomando logaritmos y reorganizando la ecuación tenemos:

$$\log \frac{I_o}{I} = \epsilon.l.c \dots\dots\dots (2-2)$$

Donde “ $\log \frac{I_o}{I}$ ” se denomina absorbancia (A).

Si tenemos una sustancia cualquiera, X, que absorbe en el rango ultravioleta visible, debido a su configuración electrónica no lo hará a una única energía sino que podrá absorber en un rango de energías con distinta eficiencia en cada una de ellas, esto da lugar al espectro de absorción de esta sustancia que indica la intensidad de luz absorbida de cada longitud de onda o energía.



**Figura 6.** Niveles de rangos de energía absorbida

**Fuente:** Holler F. (1998)

Cada sustancia tiene un espectro de absorción característico que dependerá de la configuración electrónica de la molécula, átomo o ión y de los posibles tránsitos electrónicos que se puedan producir con la radiación que incide sobre ella. (Holler F., 1998)

### **2.2.7. APROVECHAMIENTO DE RESIDUOS ORGÁNICOS**

FAO (1993) ha informado que solamente por las pérdidas de cosechas y tratamientos postcosecha se pierden en frutas y hortalizas alrededor de un 50% de la producción total. A esto se suma que cualquiera de los grupos integrantes del reino vegetal posee porciones que no son bien aprovechadas actualmente para los consumos humano o animal y que pueden representar desde bajos porcentajes, por ejemplo las hortalizas y algunas frutas con rendimientos entre el 25 y el 30% de parte no comestible, hasta contenidos importantes como es principalmente el caso de frutas, conformadas por pieles y/o cáscaras y semillas de diferentes espesores o dimensiones, cuyos contenidos en total pueden ser hasta de un 60% (Cerezal y col., 1995; Larrauri y col., 1995).

Algunas de las frutas llegan a alcanzar rendimientos de tan solo el 50% o menos en pulpas o jugos; estos son los casos de las paltas, mangos, cítricos y piña (Larrauri, 1994; Saura y Larrauri, 1995). En cambio, algunas frutas de regiones áridas o semiáridas, tales como las tunas (*Opuntia ficus-indica*), el rendimiento en pulpa puede ser relativamente oscilante, dependiendo de la variedad, condiciones climáticas y suelos, informándose cifras que van desde el 35% hasta el 55% (Cerezal & Duarte; 2005).

Las dos porciones no comestibles de frutas en estado fresco son las semillas y las pieles o cáscaras y han sido bastante estudiadas con el propósito de extraer de ellas sustancias valiosas o en los casos más simples, emplearlas como integrante adicional del producto principal que es la pulpa. En esta última función tiene más aplicabilidad la fracción cáscara por poseer elementos más interesantes en cuanto a textura y sabor, que las semillas (Larrauri, 1994; Saura y Larrauri, 1995).

Las tunas no escapan a las investigaciones de aprovechamiento de las diferentes partes del fruto tratando de aumentar el rendimiento, diversificar su

utilización y lograr una gama amplia de productos secundarios y principales que motiven mayores esfuerzos para su utilización (Sáenz C., 2000).

## 2.3. HIPOTESIS

### 2.3.1. HIPOTESIS GENERAL

Mediante el método de extracción solido-liquido se puede obtener el colorante natural a partir de la cascara de tuna purpura (*Opuntia ficus-indica*) para su posterior aplicación en la industria de alimentos.

### 2.3.2. HIPOTESIS ESPECÍFICAS

- Con una correcta caracterización fisicoquímica de la cascara de tuna purpura (*Opuntia ficus-indica*) se puede evaluar los posibles efectos que estos tengan en el proceso de obtención del colorante natural.
- A una determinada concentración del solvente, tiempo y cantidad de materia prima existe mayor solubilidad del colorante presente en la cascara de tuna purpura (*Opuntia ficus-indica*)
- Por el método espectrometría UV/VIS se determina la concentración de betalainas.
- La estabilidad del colorante natural dependerá del grado de acides que presenten los alimentos en los que se aplique.

### 2.3.3. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

**Tabla 11.** Cuadro de operacionalización de variables

VARIABLES	ÍNDICES	VALORACIÓN
<b>Variable dependiente</b> Obtención de colorante natural	Concentración de betalainas	mg/g
<b>Variables independientes</b> solvente Tiempo Materia prima	Etanol Tiempo Cascara de tuna	% min gramos
<b>Variable interviniente</b> pH	Potencial de hidrogeno	pHmetro

**Fuente:** Elaboración propia

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. MATERIALES

##### 3.1.1. MATERIAL DE LABORATORIO, EQUIPOS Y REACTIVOS

A continuación, se detallan los materiales, equipos y reactivos empleados:

##### a) Materiales de laboratorio

- Vasos de precipitados
- Matraz Erlenmeyer: 250 ml.
- Probetas 100 ml y 500 ml.
- Pipetas
- Embudo Buchner
- Espátula
- Papel filtro Whatman N°42
- Tubo de ensayos

##### b) Equipos

- Balanza analítica (METTLER TOLEDO)
- Espectrofotómetro UV/VIS (UNICO / SQ2802E)
- Potenciómetro (METRO HM /914 PH- contudtimeter)
- Rotavapor (BUCHI / R-3HB)
- Agitador (HEIDOLPH)
- Refractómetro (NR 151)
- Horno de deshidratación (FIICSA-033)

##### c) Reactivos e insumos

- Etanol 99.8 %
- Agua destilada
- Hipoclorito de sodio 8%
- Solución de NaOH
- Solución de HCl
- Ácido cítrico
- Permanganato de potasio  $KMnO_4$
- Yogurt natural
- Helado

## 3.2. METODOLOGÍA

El presente trabajo de investigación fue desarrollado en el laboratorio de control de calidad de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional del Altiplano.

### 3.2.1. MATERIA PRIMA

Los frutos maduros de *Opuntia ficus-indica* “tuna morada”, se colectaron del mercado de los proveedores de frutas las Mercedes de la ciudad de Juliaca, lo cual proviene del distrito de San Cristóbal de la región de Moquegua.

### 3.2.2. SELECCIÓN Y LIMPIEZA

Las tunas fueron seleccionadas teniendo las siguientes consideraciones de color púrpura, considerando la madurez y frutos sanos libres de daños. Esta etapa de importancia ya que los frutos que estén en estado de descomposición pueden afectar en el proceso de obtención del colorante (betalinas).

Para la desinfección, separación de espinillas y otros contaminantes se lavó los frutos en una solución desinfectante de hipoclorito de sodio al 3%. (ANEXO B) posteriormente en agua al chorro.

### 3.2.4. ACONDICIONAMIENTO

Se separó la cáscara de la pulpa, realizándose en forma manual utilizando cuchillos de acero inoxidable de buen filo. Se tuvo cuidado de no dejar la pulpa pegada a la cáscara, posteriormente se cortó la cáscara en tamaños de 0,5 cm aproximadamente. Considerando que el colorante que posee la cáscara de tuna se degrada fácilmente en presencia de temperaturas elevadas y en contacto a la luz solar se guardó en refrigeración para su posterior uso.

### 3.2.5. EVALUACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LA CÁSCARA DE TUNA (*Opuntia ficus-indica*)

Se evaluaron las siguientes características:

- Color
- Olor
- Sabor
- Peso
- pH

- Sólidos solubles (°Brix)
- Porcentaje de humedad (%)

### 3.2.6. OBTENCIÓN DEL COLORANTE (Betalainas)

#### a) Preparación del solvente a diferentes concentraciones.

El solvente empleado para la obtención de betalainas es el etanol al 99,8% este fue adquirido de la empresa CALORMO S.A. Se preparó soluciones a diferentes concentraciones etanol/agua (ANEXO C) para determinar la mejor concentración de solvente.

#### b) Pesado de muestra

En un vaso de precipitado se pesó 5-15 gr. de cáscara de tuna con el fin de evaluar la cantidad de materia prima que se usará en el proceso, luego se agregó 50 ml de etanol. La mezcla se puso en un equipo de agitación constante (HEIDOLPH) a 150 rpm por tiempos determinados.

#### c) Filtración

Es extracto obtenido se filtró con un papel filtro whatman N°42 y embudo de vidrio. El porcentaje de pigmento retenido (%P.R.) en el papel filtro fue calculado de acuerdo a la siguiente ecuación (Lugo, 1998):

$$\% P. R. = \frac{C.P.T_o - C.P.T_f}{C.P.T_o} \times 100 \dots \dots \dots (3-1)$$

Dónde:

% P. R. = porcentaje de pigmento retenido.

$C.P.T_o$  = concentración del pigmento antes de pasar por el filtro (mg / g cascara).

$C.P.T_f$  = concentración del pigmento después de pasar por el filtro (mg / g cascara).

### 3.2.7. CALIBRACIÓN DEL ESPECTOFOTOMETRO UV/VIS (UNICO / SQ2802E)

Para la obtención de datos confiables se realizó la verificación del espectrofotómetro con solución permanganato de potasio ( $KMnO_4$ ) por el método descrito en el ANEXO E. (Azcarate M.P. & Kloster)

### 3.2.8. CUANTIFICACIÓN DE BETALAINAS

La cuantificación de betalainas (mg/g) se realizó en un espectrofotómetro UV/VIS (UNICO / SQ2802E), con celdas de cuarzo de un centímetro de paso óptico, rangos fotométricos 0,3- 3 Abs. y longitud de onda 190-1100 nm.

La conversión de las unidades de absorbancia en unidades de concentración se utilizó la ecuación descrita por Castellanos & Yahia (2008):

$$B \left( \frac{mg}{g} \right) = \frac{A * Fd * PM * V * 1000}{\epsilon * P * L} \dots \dots \dots (3 - 2)$$

Dónde:

B = Contenido de betacianina o betaxantina.

A = Absorbancia 538 nm para betacianinas y 483 nm para betaxantinas

FD = Factor de dilución.

PM = Peso molecular 550 (g/mol) betacianina y 308 (g/mol) betaxantina.

V = Volumen del extracto (L)

$\epsilon$  = Coeficiente de extinción molar 60000 (mol.L/cm) para betacianinas y 48000 (mol.L/cm) para betaxantina

L = Anchura de la cubeta del espectrofotómetro (1cm)

Las betalainas está compuesto por betacianinas de color rojo-purpura que representa entre 75- 95 % y las betaxantinas de color amarillo que pueden estar presentes en menores cantidades. (Parra Ortega, 2014)

$$Betalainas = betacianinas + betaxantinas \dots \dots \dots (3-3)$$

### 3.2.9. CONCENTRACIÓN DEL PIGMENTO

Se realizó el proceso de extracción del colorante considerando los parámetros óptimos evaluados. Determinando la concentración inicial del colorante por espectrofotometría posteriormente se puso a concentrar el pigmento en un equipo rota vapor (BUCHI / R-3HB) con baño maría a 40°C por 70 min.



### 3.2.10. APLICACIÓN DEL COLORANTE OBTENIDO

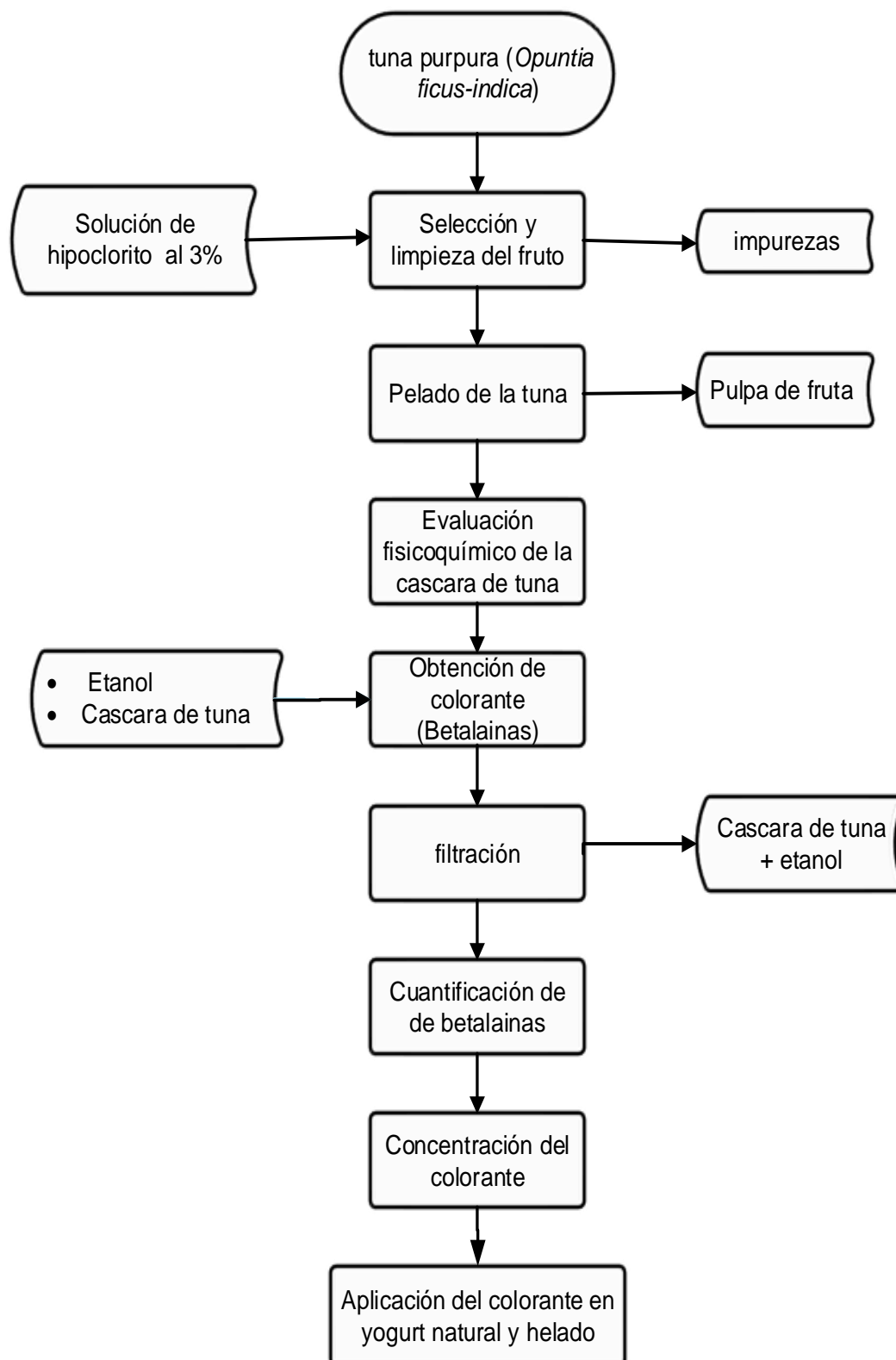
#### a) Aplicación del colorante en yogurt natural

Se realizó un ensayo de aplicación de colorante obtenido de la cáscara de tuna (*Opuntia ficus – indica*) en yogurt natural de marca yogulé, N° de lote 1709 y fecha de vencimiento 18/01/18. Donde se evaluó las características organolépticas: color, olor, sabor y aspecto durante 11 días. Para lo cual se aplicó en proporción de 1 ml de colorante en 10 ml de yogurt natural.

#### b) Aplicación del colorante en helado

El helado empleado para la aplicación fue de la marca bells con N° de lote 220917-1 y fecha de vencimiento 22/09/18. La proporción de colorante/ helado fue 150 ml/1 litro homogenizándose con una batidora manual, posteriormente se puso a congelar. Se evaluaron las características: color, olor, sabor y aspecto por un periodo de 5 días.

**Figura 7.** Proceso de obtención de colorante natural (betalainas) a partir de la cáscara de tuna (*Opuntia ficus-indica*).



**Fuente:** Elaboración propia

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se dan a conocer los resultados obtenidos del capítulo anterior, a través de tablas y figuras, la interpretación de los mismos y la discusión basada en el marco teórico, marco conceptual y en los antecedentes de este trabajo.

##### 4.1. EVALUACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LA CÁSCARA DE TUNA (*Opuntia ficus-indica*)

###### ➤ **Peso.**

En una balanza analítica se evaluó pesos de los frutos enteros y pesos de cáscaras se obtuvo como representación de peso de cáscaras un 46.82 %.

**Tabla 12.** Representación del peso de cáscaras en función al peso total del fruto

N° de muestra	Peso de tuna entera (g.)	Peso de cascara tuna (g.)	Peso de la pulpa de tuna (g.)	Representación de la cascara (%)
1	120,92	57,00	63,92	47,14
2	151,04	70,44	80,60	46,64
3	137,56	60,89	76,67	44,16
4	131,69	64,37	67,32	48,88
5	115,50	53,80	61,70	46,58
<b>Representación promedio de la cascara</b>				<b>46,82</b>

**Fuente:** Elaboración propia

**En la tabla 12.** Muestra el valor promedio del peso en función al peso total del fruto, la cáscara de tuna representa un 46,82%. Mientras que Huaman Congora, (2014) estudió las tunas provenientes del departamento de Ayacucho donde reporta un rendimiento de 48,7%. Y López Guevara, (2014) presenta un 40% de cascara frutos del distrito de Huarochirí, región de Lima.

Esto indica que casi el 50% del fruto es eliminado, por lo cual constituye un excelente desecho orgánico que se puede aprovechar como materia prima para la obtención de colorantes naturales y otros productos derivados. Concluyéndose también que el % de rendimiento de cascara en función al peso total del fruto varían según el suelo en que se cultivan.

➤ **pH.**

La acidez de la cáscara de tuna se evaluó con un Potenciómetro (METRO HM /914 PH- contudtimeter).

**Tabla 13.** Resultados de la evaluación del pH que presenta la cáscara de tuna.

N° de muestra	pH
1	6,09
2	5,10
3	5,22
4	5,55
5	5,01
<b>Valor promedio</b>	<b>5,39</b>

**Fuente:** Elaboración propia

**En la tabla 13.** Se observa el valor promedio de pH igual a 5,39, en ese rango de pH no se observó un cambio de coloración esto indica que las betalainas se encuentran estables por esta razón que no fue necesario hacer un ajuste de pH.

Esto se corrobora con el estudio realizado por Von Elbe & Goldman, (2000) donde evaluó la estabilidad de las betalainas observando que a pH por debajo de 3 el color cambia a violeta, y su intensidad decrece y por encima del pH 7 el color es más azulado debido a un efecto batocrómico o desplazamiento hacia el rojo.

También Lock (1997) concluye que el pH óptimo para la máxima estabilidad de la betacianina y betaxantina en presencia de oxígeno está entre 3,5-7 rango en el que se encuentran la mayoría de los alimentos, fuera de este rango el color decrece.

➤ **Sólidos solubles (°Brix)**

Se determinó con un Refractómetro (NR 151) los resultados se muestran en la tabla siguiente:

**Tabla 14.** Resultados de la evaluación de los sólidos solubles presentes en la cáscara de tuna.

N° de muestra	°Brix
1	4,95
2	4,73
3	4,42
4	5,65
5	5,31
<b>Valor promedio</b>	<b>5,02</b>

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 14. Se observa el contenido se sólidos solubles igual a 5,02°Brix. Lo cual indica menor contenido de sacarosa este valor es favorable en el proceso de concentración del colorante este presentará menor formación de sacarosa cristalizada en forma de goma en caso de que se obtenga el colorante en polvo.

Por otro lado, López Guevara, (2014) reporta un valor de 8,5°Brix en la cáscara y 19°Brix en el fruto. Haciendo una comparación con el valor obtenido el reportado por López Guevara, (2014) se tiene una diferencia cercana también se toma en consideración que los frutos son de diferentes departamentos.

➤ **Porcentaje de humedad.**

Se determinó por pérdida de peso, dejando secar muestras de cascara de tuna en una estufa a 100°C por 6 horas hasta obtener un peso constante.

Se calculó la humedad por la siguiente formula:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} \times 100 \dots\dots\dots (4-1)$$

Donde:

M1=Peso de la capsula vacía

M2=Peso de la capsula más la muestra antes de secar

M3=Peso de la capsula más la muestra después de secar

**Tabla 15.** Resultados de la evaluación del porcentaje de humedad de la cáscara de tuna.

N° de muestra	peso de capsula vacía (gr)	peso de capsula mas muestra sin secar (gr)	peso de capsula mas muestra desecada (gr)	% de humedad
1	46,02	76,11	50,90	83,77
2	50,21	81,23	54,10	87,45
3	47,89	77,11	52,26	85,04
4	45,56	75,65	49,81	85,87
5	48,32	78,02	53,15	83,74
<b>% de humedad promedio</b>				<b>85,17</b>

**Fuente:** Elaboración propia

**En la tabla 15.** Podemos observar que la cáscara de tuna del fruto que proviene del distrito de San Cristobal del departamento de Moquegua presenta un % de humedad promedio de es igual a 85,17.

Mientras que Huaman Congora, (2014) reporta 89,02% de humedad de la cáscara los frutos cultivados en el departamento de Ayacucho.

También en los estudios realizados por la Gerencia Regional Agraria La Libertad (2009) muestra el contenido de humedad de la parte del fruto comestible 85 - 90% y no comestible 88,46 %.

Realizando una comparación de los estudios realizados estos presentan un alto contenido de humedad, siendo esta parte del fruto altamente perecible.

## 4.2. PROCESO DE OBTENSIÓN DEL COLORANTE

### 4.2.1. EVALUACIÓN DE LAS VARIABLES MÁS INFLUYENTES

#### ➤ Efecto de la concentración del solvente

El solvente empleado para la extracción de colorante natural (betalainas) fue el etanol al 99.8 % este fue adquirido de la empresa CALORMO S.R.L. de la ciudad de Lima.

Para evaluar el efecto de la concentración de solvente se preparó soluciones de etanol/agua destilada a diferentes concentraciones, en un vaso

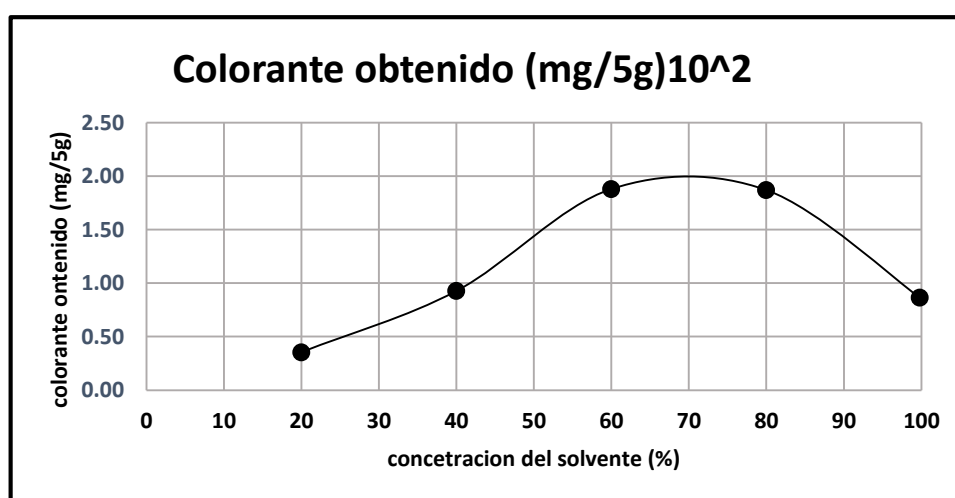
precipitado se colocó 50 ml de solvente, 5 g de cascara de tuna. Posteriormente se puso en agitación constante a 150 rpm por 45 min.

**Tabla 16.** Resultados de la evaluación de concentración del solvente en el proceso de obtención del colorante.

N°	Tiempo (min)	Peso de muestra (gr)	Volumen de solvente (L)	Concentración del solvente (%)	Colorante obtenido (mg/5g) 10 <sup>2</sup>
1	45	5	0,05	20	0,356
2	45	5	0,05	40	0,728
3	45	5	0,05	60	1,880
4	45	5	0,05	80	1,890
5	45	5	0,05	99.8	0,865

**Fuente:** Elaboración propia

**Figura 8.** Efecto de la concentración del solvente en el proceso de obtención del colorante natural.



**En la figura 8.** Se puede observar que la obtención de colorante (betalaina) es mayor al realizar las extracciones con las soluciones de etanol 40-80%, pero al hacer contacto con el solvente de 99,8% la concentración del colorante es menor esto ocurre porque las Betalainas son hidrosolubles.

**En la tabla 16.** Se observa que la solubilidad de las betalainas va incrementando al hacer contacto con el solvente de 40-80% de concentración.

Estos resultados se pueden corroborar por los realizados por Rosillo, (2016). Donde la solubilidad de betalainas es mayor en etanol 96°, mientras que en otros solventes como el cloroformo y n-hexano no son solubles.

Por otro lado, Huaman Congora, (2014). Uso etanol 96° y agua en la extracción de las betalainas de cáscara de tuna, donde, la extracción acuosa fue la más eficiente, logrando una mayor extracción, pero presenta la formación de mucilagos que dificultan en el proceso de filtrado.

Con el análisis realizado se concluye que las betalainas tienen mayor solubilidad en presencia de agua, esto se debe a que las betalainas son compuestos orgánicos hidrosolubles según Lock, (1997). Para lograr una extracción óptima de betalainas la concentración de etanol/agua será de 30-90%.

#### ➤ Efecto del tiempo en la extracción sólido – líquido

Se evaluó el tiempo en el proceso de extracción para establecer el tiempo óptimo de contacto. En un vaso de precipitación se puso 5 mg de cascara de tuna con 50 ml. de solvente posteriormente se colocó en un equipo de agitación constante a 150 rpm.

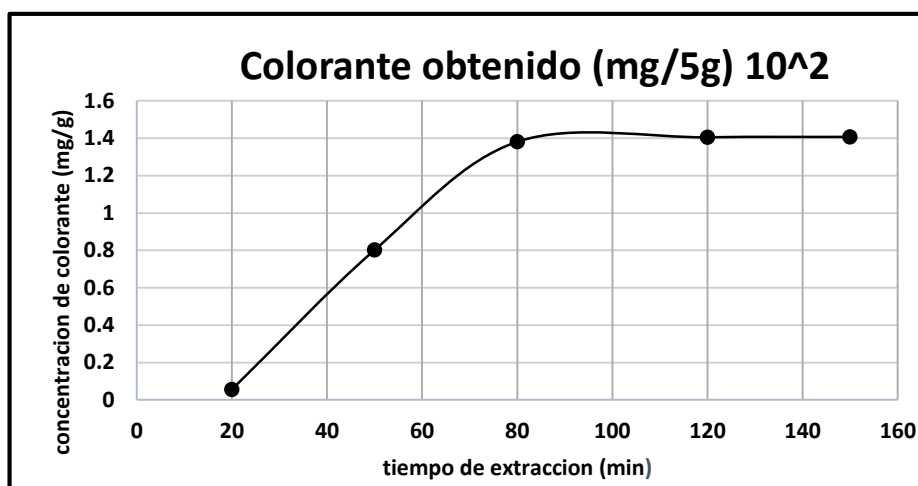
**Tabla 17.** Resultados de la evaluación del tiempo en el proceso de obtención del colorante.

N°	Peso de muestra (gr)	Volumen de solvente (L)	Concentración del solvente (%)	Tiempo de extracción (min)	Colorante obtenido (mg/5g) 10 <sup>^2</sup>
1	5	0,05	80	20	0,056
2	5	0,05	80	50	0,802
3	5	0,05	80	80	1,381
4	5	0,05	80	120	1,407
5	5	0,05	80	150	1,407

**Fuente:** Elaboración propia



**Figura 9.** Efecto del tiempo en el proceso de obtención del colorante natural.



**En la figura 9** Se puede observar que la concentración del colorante (betalaina) incrementa de 50-120 min posterior a eso la extracción se mantiene constante.

**En la tabla 17.** Se puede observar que el tiempo de extracción sólido-líquido de betalainas se da inicio a los 20 min conforme transcurre el tiempo la concentración de colorante va incrementando hasta los 120 min, posterior a este el proceso de extracción finaliza por ende la concentración se mantiene constante, alcanzando una concentración máxima de  $1.407 \times 10^2$  mg de betalainas a los 120 min. Considerando el tiempo para la optimización del proceso 30-120 min.

Mientras que Prakash Maran (2012) donde evalúa las condiciones para la extracción acuosa de pigmentos de la pulpa concluye que el tiempo óptimo del proceso de extracción es 115 min.

Por otro lado, Sánchez Gonzales (2006). Encontró el tiempo óptimo de extracción de 10 min. Empleando como solvente metanol/agua al 80% de concentración.

Realizando una comparación de ambos estudios la diferencia de tiempo de extracción es en gran proporción esto ocurre por el tipo de solvente que emplearon en el proceso de extracción.

➤ **Efecto de la cantidad de cáscara de tuna para la obtención de colorante**

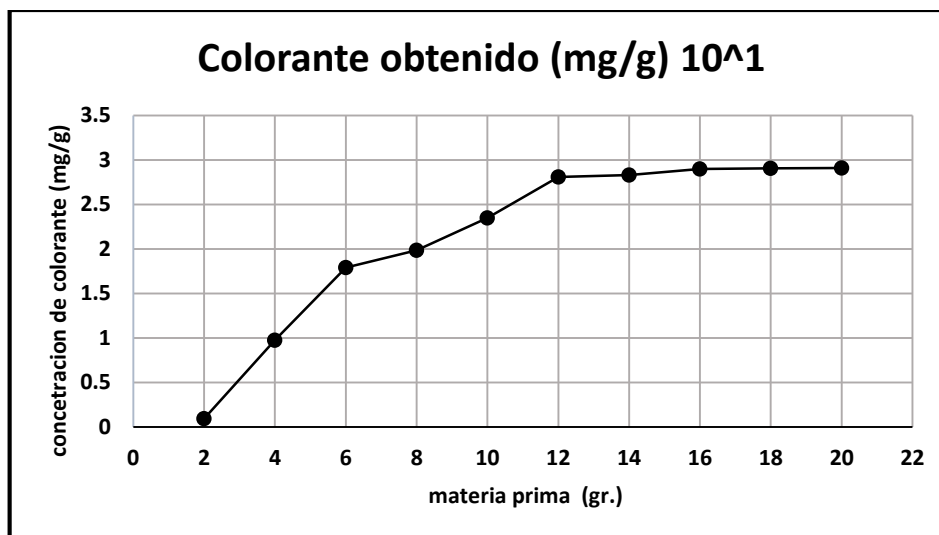
Para la evaluación de la cantidad de materia prima se pesó de 2 – 20 gramos, con 50 ml de etanol/agua al 80% y 120 min. Colocando en agitación constante a 150 rpm. los resultados se muestran en la tabla 18.

**Tabla 18.** Resultados de la evaluación de cantidad de materia prima en el proceso de obtención del colorante

N°	Tiempo (min)	Volumen de solvente (L)	Concentración del solvente (%)	Peso de muestra (gr)	Colorante obtenido (mg/g) 10 <sup>^1</sup>
1	120	0,05	80	2	0,096
2	120	0,05	80	4	0,978
3	120	0,05	80	6	1,791
4	120	0,05	80	8	1,987
5	120	0,05	80	10	2,351
6	120	0,05	80	12	2,811
7	120	0,05	80	14	2,903
8	120	0,05	80	16	2,902
9	120	0,05	80	18	2,903
10	120	0,05	80	20	2,903

**Fuente:** Elaboración propia

**Figura 10.** Efecto de la cantidad de cáscara en el proceso de obtención del colorante natural.



**En la figura 10.** Se observa al emplear cantidades de 4-14 gramos de cascara de tuna la concentración del colorante incrementa, posterior a estas cantidades la concentración se mantiene constante.

**En la tabla 18.** Se muestra el efecto que tiene la cantidad de materia prima al el incrementar este de 2 – 14 gr extracción es progresiva. Obteniendo una concentración máxima de 0.2903 mg de betalaina en 14 gr de cascara de tuna. Se tomara en consideración 5-15 gr. de materia prima para la optimización del proceso.

Haciendo una comparación con el estudio realizados por Huaman Congora (2014) donde realiza la extracción de betalainas empleando agua como disolvente, obtiene una concentración máxima de 6.58 mg betalainas en 15 mg. de cascara tuna deshidratada.

Se observa que el resultado obtenido por Huaman Congora (2014) es mucho mayor a lo evaluado. Esto se da porque en las pruebas realizadas la cascara de tuna no pasaron por un proceso de deshidratación para evitar la degradación de las betalainas. Concluyéndose también que el efecto de la humedad tiene influencia en el proceso de obtención de betalainas.

#### **4.2.2. DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS ÓPTIMOS PARA EL PROCESO DE OBTENCIÓN DE BETALAINAS**

Para la determinación de los parámetros óptimos de la obtención de colorante natural se trabajó con el diseño experimental de superficie de

respuesta Box-Behnken, considerando variables independientes: concentración del solvente (X1), Tiempo (X2) y cantidad de muestra (X3). Como variable de respuesta concentración de Betalainas (Y). Este diseño tiene la forma de un cubo con centros en las caras, 15 pruebas en un 1 bloque y 3 puntos centrales en forma aleatoria para la estimación del error experimental. (Montgomery, 2004).

A partir de la evaluación de las variables influyentes se tomaron las siguientes consideraciones: concentración del solvente 60-90 (%), Tiempo 30-120 (min) y cantidad de muestra 5-15 (g). todas las muestras se trabajaron con agitación constante de 150-200 rpm.

- **Determinación de los parámetros y rangos**

**Tabla 19.** Niveles de las variables independientes a estudiar

símbolo	Variables independientes	Niveles		
		-1	0	+1
X1	Concentración del solvente (%)	60	75	90
X2	Tiempo (min)	30	75	120
X3	Cantidad de materia prima (gr)	5	10	15

**Fuente:** Elaboración propia

La variable respuesta o de salida es la que depende de las variables independientes, la cual se presentó según tabla 20.

**Tabla 20.** Variable respuesta

símbolo	Variable dependiente	unidad
Y	Betalainas	mg/g

**Fuente:** Elaboración propia

Las betalainas está compuesto por betacianinas de color rojo-purpura que representa entre 75- 95 % y las betaxantinas de color amarillo que pueden estar presentes en menores cantidades. (Parra, 2014)

La conversión de las unidades de absorbancia de concentración se utilizó las ecuaciones (3 - 2) y (3 - 3) descrita en el capítulo III:

**Tabla 21.** Resultados de determinación de las variables por superficie de respuesta.

N° de pruebas	X1 Concentración de Solvente (%)	X2 Tiempo (min)	X3 materia prima (gr)	Absorbancia betacianina $\lambda=538$	Absorbancia betaxantina $\lambda=483$	Factor de dilución (Fd)	Y betalaina (mg/g)
1	75	120	5,002	0.592	0.178	1	0,131
2	60	120	10,011	1.117	0.637	1	0,143
3	90	30	10,003	0.726	0.128	1	0,075
4	75	30	5,012	0.515	0.16	1	0,115
5	60	75	5,008	0.599	0.101	1	0,122
6	90	120	10,002	1.241	0.578	1	0,151
7	<b>75</b>	<b>75</b>	<b>10,005</b>	<b>0.542</b>	<b>0.09</b>	<b>5</b>	<b>0,277</b>
8	60	75	15,007	0.419	0.101	5	0,149
9	60	30	10,023	0.936	0.198	1	0,098
10	75	120	15,015	0.753	0.115	5	0,252
11	90	75	15,012	0.285	0.098	5	0,108
12	<b>75</b>	<b>75</b>	<b>10,005</b>	<b>0.542</b>	<b>0.09</b>	<b>5</b>	<b>0,277</b>
13	<b>75</b>	<b>75</b>	<b>10,005</b>	<b>0.542</b>	<b>0.09</b>	<b>5</b>	<b>0,277</b>
14	90	75	5,002	0.439	0.093	1	0,092
15	75	30	15,048	0.295	0.079	5	0,107

**Fuente:** Statgraphis (2011).

**En la tabla 21.** Se puede observar la interacción de las variables independientes concentración de solvente a un 75 %, tiempo 75 min y cantidad de materia prima 10 gramos en la que se obtiene una mejor respuesta en función a la concentración de betalainas 0.277mg/g según ANEXO A.

- **Respuesta optimizada.**

Meta: maximizar la obtención de betalainas

Valor óptimo =0. 285313 mg/g

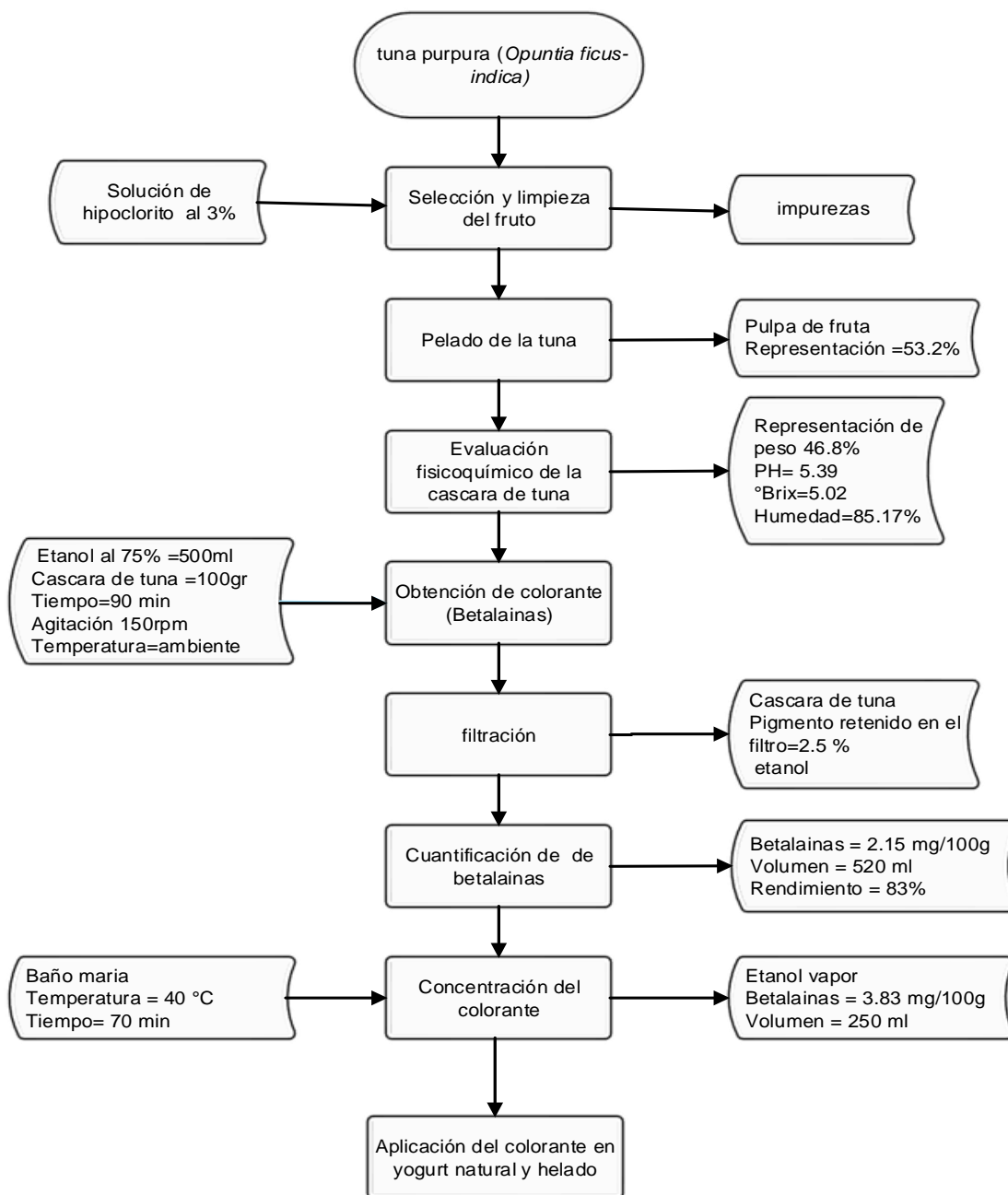
**Tabla 22.** Resultados de las variables óptimas.

Factor	Bajo (-)	Alto(+)	Óptimo
solvente	60.0	90.0	74.6974
tiempo	30.0	120.0	89.8639
materia prima	5.0	15.0	11.194

**Fuente:** Statgraphics (2011).

**En la tabla 22.** Se muestra la combinación de los valores bajos y altos de las variables independientes con el fin de obtener los valores óptimos que maximicen la obtención de betalainas. Los parámetros óptimos del proceso de obtención del colorante son: concentración del solvente 75%, tiempo extracción 90 min. y materia prima de 11 gr, para obtener 0.285 mg de betalainas.

**Figura 11.** Balance de materia en el proceso de obtención del colorante natural (betalainas) a partir de la cáscara de tuna (*Opuntia ficus-indica*)



Fuente: Elaboración propia

#### 4.2.3. ANÁLISIS CUANTITATIVO DEL COLORANTE NATURAL OBTENIDO

La obtención del colorante se realizó considerando los parámetros óptimos determinados anteriormente por el diseño experimental Box-Behnker donde se realizó una extracción para 100g de cáscara de tuna, concentración de etanol a 75%, tiempo 90 min. Obteniéndose 520 ml de pigmento a una concentración de 2.15 mg/g. con un rendimiento del 83%. Seguidamente se concentró el colorante hasta un volumen de 250 ml en baño maría a 40 °C y 70 min.

**Tabla 23.** Resultados del análisis del pigmento concentrado

PARÁMETROS	UNIDAD	VALOR
Concentración (Betalainas)	mg/g	3,83
pH		5,48
Sólidos solubles	°Brix	19,1
densidad	g/l	1,025
Color		Rojo-purpura

**Fuente:** Elaboración propia

**En la tabla 23.** Podemos observar que el pH se mantiene constante en todo el proceso lográndose una estabilidad de las betalainas. También se logró incrementar en gran proporción la concentración de betalainas hasta 3.83 mg/g y reducir el volumen a 250 ml. Esto se debe a que el solvente empleado tiene un punto de ebullición bajo lo cual al momento de exponer el pigmento a temperaturas menores de 40°C su volatilidad incrementa, de esa forma se evita la degradación de betalainas en el momento de la concentración.

En el estudio realizado por Lock, (1997) donde concluye que el pH óptimo para la máxima estabilidad de la betacianina y betaxantina en presencia de oxígeno está entre 3,5-7, rango en el que se encuentran el pigmento obtenido.

Por otro lado López Guevara, (2014) extrajo el pigmento a partir de la pulpa de fruto empleando agua como disolvente, donde obtuvo un extracto de una concentración inicial de 15.45 mg/g de betalainas. Posteriormente realizó la concentración del pigmento reduciendo su volumen a 400 ml con una concentración final de 18.23 mg de betalainas. En este estudio no se logró obtener una concentración máxima de betalainas esto se debe a que el disolvente empleado presenta un alto punto de ebullición por ende se necesita

emplear mayor temperatura para el concentrado del pigmento. Las betalinas al estar expuestas a temperaturas mayores de 40°C empiezan a degradarse.

#### 4.2.4. EVALUACIÓN SENSORIAL DE LA APLICACIÓN DEL COLORANTE EN ALIMENTOS

##### a) Aplicación del colorante en yogurt natural

**Tabla 24.** Resultados de la aplicación del colorante en yogurt natural.

Características organolépticas	Días				
	2°	4°	6°	8°	10°
Color	rosado	rosado	rosado	rosado	Ligeramente rosado
Olor	Característico de yogurt	Característico de yogurt	Característico de yogurt	Característico de yogurt	Olor a diacetileno
Sabor	acido	acido	tuna	tuna	tuna
Aspecto	homogéneo	homogéneo	homogéneo	homogéneo	homogéneo

**Fuente:** Elaboración propia

**En la Tabla 24.** Se puede observar que el colorante se mantiene estable hasta el día 8 posterior a este el color se empieza a degradar este efecto se debe a que la evaluación se realizó a temperatura ambiente.

Esto se puede corroborar con la conclusión a la que llegó Lock, (1997) donde indica que en presencia de oxígeno y temperaturas elevadas el colorante tiende a degradarse con facilidad.

##### b) Aplicación del colorante en helado

**Tabla 25.** Resultados de la aplicación del colorante en helado

Características organolépticas	Días				
	1°	2°	3°	4°	5°
Color	rosado	rosado	rosado	rosado	rosado
Olor	vainilla	vainilla	vainilla	vainilla	vainilla
Sabor	Vainilla	Tuna	Tuna	Tuna	Tuna
aspecto	homogéneo	homogéneo	homogéneo	homogéneo	homogéneo

**Fuente:** Elaboración propia

**En la tabla 25.** Se observa que el colorante es estable no presenta ni un cambio de coloración durante los 5 días evaluados. Con respecto al sabor presento un cambio de vainilla a tuna este se debe a la cantidad de colorante empleado.



En el estudio de Parra ortega, (2004) concluye que uno de los efectos los colorantes naturales en la aplicación es que tienden a cambiarle el sabor a algunos alimentos.

Por otro lado, López Guevara, (2014) realizó la aplicación del extracto que obtuvo a partir de la pulpa del fruto “tuna morada” en crema chantilly, donde concluye que el colorante presentó una estabilidad hasta el día 7 posterior a este empezó a presentar una pérdida de coloración.

Con estos resultados se puede concluir que el pigmento extraído de la cáscara de tuna (*Opuntia ficus –indica*) es aplicable en alimentos. Considerando que a condiciones determinadas de temperatura y pH del alimento el colorante se mantiene estable.

## V. CONCLUSIONES

En la evaluación fisicoquímica de la cáscara de tuna (*Opuntia ficus-indica*) de los frutos provenientes del distrito de San Cristóbal de la región de Moquegua, muestra un porcentaje en peso de 46.82 % de cáscara en función al fruto entero, tiene como pH igual a 5,39, sólidos solubles 5,02°Brix y humedad promedio de 85,17 %. Con respecto al pH que presenta la cáscara de tuna se encuentra en el rango de estabilidad de 3-7 por lo cual no fue necesario hacer un ajuste de pH.

En la evaluación del efecto de las variables más influyentes del proceso de obtención de colorante natural se lograron establecer las siguientes condiciones de trabajo: concentración del solvente de 60-90%, tiempo de 30 - 120 min y materia prima 5-15 gr. Finalmente con ayuda del diseño experimental Box-Behnken se determinaron los parámetros óptimos de extracción las cuales son: concentración del solvente 75%, tiempo de extracción solido- liquido 90 min y 11,20 gr de materia prima.

El análisis cuantitativo del colorante natural se realizó con un espectrofotómetro UV/VIS a las longitudes de onda 538 betacianinas y 483 betaxantias. Lográndose determinar la concentración máxima de 2,15 mg de betalainas en 100 gr cáscara de tuna, con un rendimiento de extracción de 83 % y pH igual a 5,48, con estos resultados se concluye que las betalainas se encuentran en su rango de estabilidad, como también que es favorable para la aplicación en alimentos.

El pigmento obtenido se aplicó en yogurt natural y helado donde se observó que no hay un cambio de coloración en el yogurt hasta el día 8 y en el helado se mantiene constante en los 5 días evaluados, también se observó que efecto que produjo el colorante en la aplicación de ambos productos fue el cambio de sabor a tuna. Finalmente se concluye que el colorante extraído de la cáscara de tuna es aplicable en ambos alimentos.

## VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar pruebas para la obtención del colorante en polvo por secado por atomización.
- Se recomienda realizar estudios de obtención de colorante natural de las tunas amarillas y blancas.
- Realizar estudios de obtención de licor cascara de tuna así difundir el aprovechamiento de residuos orgánicos generando tecnologías limpias dándole un valor agregado.
- Así mismo se sugiere realizar estudios de determinación y cuantificación de pectina y mucilagos de la cáscara de tuna.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Azeredso, H.M.C. (2008). Betalains: properties, sources, applications, and stability – a review. *International Journal of Food Science & Technology* 44, 2365–2376.
- Azcarate M.P. & Kloster (2009). Guía para la verificación de espectrofotometro UV-VISIBLE en el análisis de agua y suelo
- Aquino Bolaños (2012); “Caracterización fisicoquímica de siete variedades de tuna (*Opuntia* spp.) color rojo-violeta y estabilidad del pigmento de las dos variedades con mayor concentración.”
- Cerezal, P.; Larrauri, J.A.; Piñera, R.M. (1995): Influencia de factores en el aprovechamiento de subproductos de la industria de frutas y vegetales.
- Cerezal P. & Duarte G. (2005); “Utilización de cáscaras en la elaboración de productos concentrados de tuna (*Opuntia ficus-índica*).”
- Chile, (2001) instituto de estudios salud natural.
- CONCYTEC (2002). Taxonomía de las fanerógamas útiles del Perú. Trujillo
- Estados Unidos, food and drug administration, (enero, 1993)
- FAO (1993): Prevención de pérdidas de alimentos poscosecha: frutas, hortalizas, raíces y tubérculos. Código FAO: 17 AGRIS: J11. Colección FAO: Capacitación, N° 17/2. ISBN 92-5 302766-5. Roma.
- García Barrera, F.A., Reynoso, C.R. & Gonzalez de Mejía, E. (1998). Estabilidad de las betalaínas extraídas del garmbullo (*Myrtillocactus geometrizans*). *Food Science and Technology International*, 4, 115–120.
- Fernández-López, J. & Almela, L. (2001), Application of high-performance liquid chromatography to the characterization of the betalain pigments in prickly pear fruits. *Journal of Chromatography A* 913, 415–420.
- Holler F. (1998), principios de análisis instrumental, 5° ed.; págs. 353-367.
- Lock, O. (1997) Colorantes Naturles. Fondo editorial Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima. Perú.
- López Guerra (2014); “Extracción y actividad antioxidante del colorante natural de la pulpa del fruto de *Opuntia ficus-indica* “tuna morada” y su aplicación en crema chantilly.” Universidad Nacional de San Marcos.
- Lugo C. (1998). “Aprovechamiento Integral de Pitaya (*Stenocereus queretaroensis*) para la Producción de Colorantes Naturales Rojos

- Sustituyentes de los Sintéticos”. Universidad Autónoma de México. México.
- McGraw-Hill (1998), Principios de análisis instrumental, 5° ed.; Ed. págs. 353-367.
- Montgomery D. C. (2004) “Diseño y Análisis de experimentos. Editorial Limusa S.A: México. Ed. 2da.
- Mostacero LJ, Mejía CF, Gamarra TO. (2002) Taxonomía de las fanerógamas útiles del Perú. Trujillo Edit. CONCYTEC
- Palacios RP, Scheinvar L, Téllez O. Nicho ecológico y distribución geográfica del género *Opuntia* en la región central de México. Laboratorio de Recursos Naturale. México DF: Universidad Nacional Autónoma de México; 2005.
- Parra Ortega, (2004) estudio comparativo del uso de colorantes naturales y sintéticos, desde el punto de vista funcional y toxicológico
- Palacios C. S. (2004). “Diseño experimental: aplicado a ciencias y tecnología. Edición CONCYTEC. Lima - Perú”.
- Prakash Maran (2012); Response surface modeling and optimization of process parameters for aqueous extraction of pigments from prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit.
- Pulgar J. (1992) Frutales Nativos. Publicación de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM). Lima – Peru.
- Reynoso R., Garcia F., Morales D., Gonzales De Mejia E. (1997) Stability of betalain pigments from cactaceae fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45 (8) 2984-2988.
- Rodríguez P. F. (1985). Las betalainas como colorantes naturales en alimentos. *Revista de la Industria Alimentaria*. Vol. 7, 4: 9-13.
- Rosillo (2016) Estudio de los principios bioactivos y obtención de colorantes naturales *Opuntia ficus - indica* (L.) Miller “tuna”
- Sanchez (2006). Caracterización de los principales pigmentos *del Opuntia juconoste*
- Sáenz C. (2000): Processing technologies: an alternative for cactus pear (*Opuntia Spp.*) fruits and cladodes. *Journal of Arid Environments* 46 (3): 209 – 225.
- Secco, A. (1994). Colorantes Sintéticos y Naturales para Uso en Alimentos. Alimentos.

- Reglamento nacional sanitario de los alimentos. D.S. N° 977/96, 2000.
- Soukap & Maing (1997). Aspectos de comidas coloreadas.
- Treybal, R. E. (1980). Operaciones de transferencia de masa. Editorial. Mc Graw- Hill, 2da. Edición. México
- Stintzing, F.C., Schieber, A. y Carle, R. (2002). Identification of betalains from yellow beet (*Beta vulgaris* L.) and cactus pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.] by high-performance liquid chromatography– electrospray ionization mass spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50**, 2302–2307.
- Stintzing, F. & Carle, R. (2004). Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. *Trends Food Science Technology* **15**, 19-38.
- Tsuda, S., Murakami, M., Kano, K., Taniguchi, K. y Sasaki, Y.F. (2001). DNA damage induced by red food dyes orally administered to pregnant and male mice. *Toxicological Sciences* **61**, 92-99.
- Vaillant, F., Pérez, A., Dávila, I., Dornier, M. y Reynes, M. (2005). Colourant and antioxidant properties of red-purple pitahaya (*Hylocereus* sp.). *Fruits* **60**, 1–10.
- Vereltz K, Buck E. (1984) Color stability and sensory attributes of chicken frankfurters made with betalains and potassium sorbate versus sodium nitrite *Journal of Food Protection* (Ames, Iowa; International of Milk, Food, Environmental Sanitarians), **47**
- Vergara Hinostroza (2013); "Extracción y estabilización de betalainas de tuna púrpura (*Opuntia ficus-indica*) mediante tecnología de membranas y microencapsulación, como colorante alimentario." Santiago de Chile.
- Viloria-Matos, A; Corbelli-Moreno, D. (2001). Evaluación del contenido y estabilidad de betalainas en pulpa de fruta de *Opuntia boldinghii* Br. Et R. Canoabo. Universidad Nacional Experimental Simón Rodríguez **70** p. Available from University Bibliotec.
- Viloria & Matosn (2002); "Estabilidad de betalainas en pulpa de tuna (*Opuntia boldinghii* Br. et R.) sometidas a un proceso de liofilización". Venezuela.

**ANEXOS**

**ANEXO A:** ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA LA INVESTIGACIÓN

**ANEXO B:** PREPARACIÓN DE SOLUCIÓN DESINDECTANTE DE  
HIPOCLORITO DE SODIO AL 5 %

**ANEXO C:** PREPARACIÓN SOLVENTE A DIFERENTES CONCENTRACIONES

**ANEXO D:** EVALUACIÓN ORGANOLÉPTICA DE LA CÁSCARA DE TUNA:

**ANEXO E:** CALIBRACIÓN DEL ESPECTROFOTÓMETRO 20802 UV/VIS CON  
SOLUCIÓN PERMANGANATO DE POTASIO (KMNO<sub>4</sub>)

**ANEXO F:** IMÁGENES DE EL PROCESO DE OBTENCIÓN DEL COLORANTE  
NATURAL (Betalainas)

**ANEXO G:** CERTIFICADOS DE CALIDAD DEL ALCOHOL ANHIDRO

## ANEXO A

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA LA INVESTIGACIÓN

## Diseño experimental de superficie de respuesta Box-Behnken

En el diseño experimental de superficie de respuesta Box-Behnken se consideraron como variables independientes a la concentración del solvente (%), Tiempo (min) y cantidad de muestra (g). Este diseño tiene la forma de un cubo con centros en las caras, en la práctica se requieren 15 pruebas en un 1 bloque con 3 puntos centrales para la estimación del error experimental. (Montgomery, 2004).

➤ **Determinación de los parámetros y rangos**

**Tabla 26.** Niveles de las variables independientes a estudiar

símbolo	Variables independientes	Niveles		
		-1	0	+1
X1	Concentración del solvente (%)	60	75	90
X2	Tiempo (min)	30	75	120
X3	Cantidad de materia prima (gr)	5	10	15

**Fuente:** Elaboración propia

La variable respuesta o de salida es la que depende de las variables independientes, la cual se presentó según tabla 14.

**Tabla 27.** Variable respuesta

símbolo	Variable dependiente	unidad
Y	Betalainas	mg/g

**Fuente:** Elaboración propia

➤ **Numero de experimentos por el diseño experimental Box- Behnken**

El número de experimentos se calculó según la ecuación (Montgomery, 2004):

$$N = 2K * (K - 1) + n_0$$

Donde:

N=Número de experimentos.

K=Número de factores.



n0=Número de puntos centrales.

Reemplazando en la ecuación tenemos.

$$N = 2 * 3 * (3 - 1) + 3 = 15 \text{ Pruebas experimentales}$$

**Tabla 28.** Matriz del diseño experimental Box-Behnken

Pruebas	Bloques	Variables codificadas			Respuesta
		X1	X2	X3	Y
1	1	-1	-1	0	
3	1	+1	-1	0	
2	1	-1	+1	0	
4	1	+1	+1	0	
5	1	-1	0	-1	
6	1	+1	0	-1	
7	1	-1	0	+1	
8	1	+1	0	+1	
9	1	0	-1	-1	
10	1	0	+1	-1	
11	1	0	-1	+1	
12	1	0	+1	+1	
13	1	0	0	0	
14	1	0	0	0	
15	1	0	0	0	

Fuente: Montgomery (2004).

➤ **Ecuación de regresión**

La formulación estará dada por la ecuación:

$$Y = b_0 + b_1X_1 - b_2X_2 + b_3X_3 - b_4X_1^2 + b_5X_1X_2 + b_6X_1X_3 - b_7X_2^2 + b_8X_2X_3 - b_9X_3^2$$

Donde:

Y: variable respuesta.

Xi, X2, X3: variables Codificadas.

b0, b1, b2, b3, b4, b5, b6, b7, b8, b9: Coeficientes de regresión lineal

➤ **Diseño experimental de obtención de colorante natural (betalainas)**

**En la tabla 29.** Se presentan los resultados de la variable respuesta que es la concentración del colorante obtenido (mg/g) (Y), la cual se calculó según las ecuaciones (3-2) y (3-3) del capítulo III de acuerdo a la matriz del diseño

central compuesto ortogonal a condiciones de trabajo: 50 ml de solvente y agitación constante a 150 rpm .

**Tabla 29.** Resultados de la variable respuesta.

N°	X1 Concentración del Solvente (%)	X2 Tiempo (min)	X3 Materia prima (g)	Y Betalainas (mg/g)
1	75	120	5	0.131
2	60	120	10	0.143
3	90	30	10	0.075
4	75	30	5	0.115
5	60	75	5	0.122
6	90	120	10	0.151
7	75	75	10	0.277
8	60	75	15	0.149
9	60	30	10	0.098
10	75	120	15	0.252
11	90	75	15	0.108
12	75	75	10	0.277
13	75	75	10	0.277
14	90	75	5	0.092
15	75	30	15	0.107

Fuente: Statigraphis (2011).

➤ **Análisis del diseño experimental de obtención de colorante natural (betalainas) de la casara de tuna**

El análisis del diseño experimental se realizó empleando el paquete estadístico Software STATIGRAPHICS Centurión XV.

**Tabla 30.** Resumen del diseño de experimentos.

Clase del diseño	Superficie respuesta
La clase del diseño	Box-Behnken, compuesto centrado rotacional
Nombre del archivo	Obtención del colorante

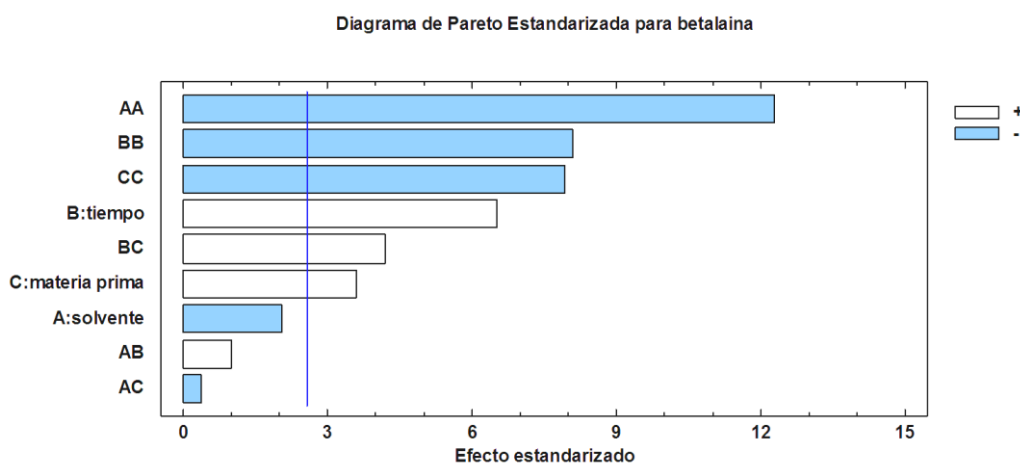
Fuente: Statigraphics (2011).

**Tabla 31.** Efectos estimados para Betalaina

Efecto	Estimado	Error Estd.	V.I.F.
promedio	2.77	0.0874166	
A:solvente	-0.2175	0.107063	1.0
B:tiempo	0.6975	0.107063	1.0
C:materia prima	0.385	0.107063	1.0
AA	-1.935	0.157593	1.01
AB	0.15	0.15141	1.0
AC	-0.055	0.15141	1.0
BB	-1.275	0.157593	1.01
BC	0.635	0.15141	1.0
CC	-1.25	0.157593	1.01

Fuente: Statgraphics (2011).

En la tabla 31. Se observa los efectos estimados de las variables en forma individual y las interacciones entre ellas, las variables que tienen el con el signo positivo son las que tienen mayor efecto en este caso es el tiempo seguidamente de la cantidad de materia prima, la variable de menor efecto es la concentración de solvente que tiene el signo negativo. (Palacios, 2004).

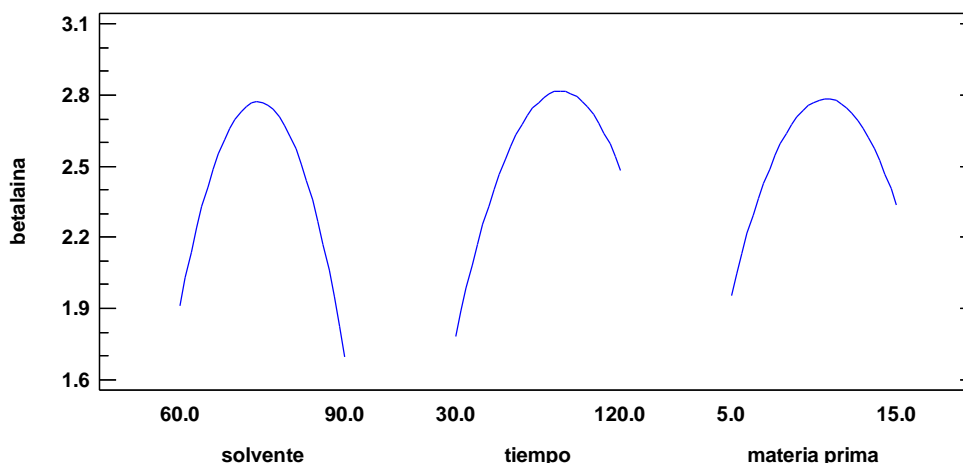


**Figura 12.** Efectos estimados.

Fuente: Statgraphics (2011).

También se muestra el error de estándar de cada uno de estos efectos el cual mide su error de muestreo. Se observa que el factor de inflación de varianza (V.I.F) más grande es igual a 1.01. Para un diseño perfectamente ortogonal todos los factores serian igual a 1.

Gráfica de Efectos Principales para la obtencion de betalaina

**Figura 13.** Gráfica de los efectos principales

**Fuente:** Statgraphics (2011).

Se presenta la obtención de betalainas frente a los efectos principales de las variables independientes, en él se observa que la variable más significativa es el tiempo seguido de la cantidad de materia prima y concentración de solvente, las cuales se describen en forma individual a continuación.

La concentración del solvente tiene un comportamiento cuadrático sobre la obtención de betalainas con pendiente negativa eso quiere decir que al disminuir la concentración del solvente 90 – 70 % aumenta en mayor proporción la obtención de betalainas a 0.277 mg/g. sin embargo al aumentar la concentración del solvente de 70-90% la concentración del colorante disminuye.

La cantidad de materia prima tiene comportamiento cuadrático sobre la obtención de betalainas, con pendiente positiva eso indica que al aumentar la cantidad de 5-10 mg. La concentración de betalainas va incrementando hasta un 0.277 mg/g. con forme se emplea más materia prima de 10-15 mg/g, la extracción de betalainas se mantiene constante y tiende a bajar ligeramente.

El tiempo tiene comportamiento cuadrático sobre la obtención de betalainas, con pendiente positiva eso indica que al aumentar el tiempo de 30-80 min la concentración de betalainas incrementa de 0.17 mg/g a 0.277 mg/g a valores superiores del tiempo 80- 120 min. Tiende a ser contante y bajar ligeramente la capacidad de extracción del colorante a 0.25 mg/g.

**Tabla 32.** Análisis de Varianza para la obtención de betalainas.

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:solvente	0.0946125	1	0.0946125	4.13	0.0979
B:tiempo	0.973013	1	0.973013	42.44	0.0013
C:materia prima	0.29645	1	0.29645	12.93	0.0156
AA	3.45621	1	3.45621	150.76	0.0001
AB	0.0225	1	0.0225	0.98	0.3673
AC	0.003025	1	0.003025	0.13	0.7313
BB	1.50058	1	1.50058	65.46	0.0005
BC	0.403225	1	0.403225	17.59	0.0085
CC	1.44231	1	1.44231	62.91	0.0005
Error total	0.114625	5	0.022925		
Total (corr.)	7.51369	14			

**Fuente:** Statgraphics (2011).

R-cuadrada = 98.4745 porciento

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 95.7285 porciento

Error estándar del est. = 0.15141

Error absoluto medio = 0.0636667

Estadístico Durbin-Watson = 3.11254 (P=0.9418)

Autocorrelación residual de Lag 1 = -0.567734

### El StatAdvisor

La tabla ANOVA particiona la variabilidad de betalainas en piezas separadas para cada uno de los efectos. Entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 6 efectos tienen un valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 98.4745% de la variabilidad en betalainas. El estadístico R-cuadrada ajustada, que es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables

independientes, es 95.7285%. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar de los residuos es 0.15141. El error medio absoluto (MAE) de 0.0636667 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si haya alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentan los datos en el archivo. Puesto que el valor-P es mayor que 5.0%, no hay indicación de auto correlación serial en los residuos con un nivel de significancia del 5.0%.

**Tabla 33.** Coeficiente de regresión del modelo ajustado.

Coeficiente	Estimado
constante	-24.7025
A:solvente	0.633083
B:tiempo	0.0325278
C:materia prima	0.460167
AA	-0.0043
AB	0.000111111
AC	-0.000366667
BB	-0.000314815
BC	0.00141111
CC	-0.025

Fuente: Statgraphics (2011).

A continuación, se muestra la ecuación del modelo ajustado que presenta a la variable respuesta con los coeficientes de regresión de la **tabla 33**.

$$\begin{aligned}
 \text{betalaina} \left( \frac{mg}{g} \right) = & -24.7025 + 0.633083 * \text{solvente} + 0.0325278 * \\
 & \text{tiempo} + 0.460167 * \text{materia prima} - 0.0043 * \text{solvente}^2 + \\
 & 0.000111111 * \text{solvente} * \text{tiempo} - 0.000366667 * \text{solvente} * \\
 & \text{materia prima} - 0.000314815 * \text{tiempo}^2 + 0.00141111 * \text{tiempo} * \\
 & \text{materia prima} - 0.025 * \text{materia prima}^2
 \end{aligned}$$

Se observa que la ecuación está representada en sus variables naturales.

Superficie de Respuesta Estimada  
materia prima=10.0

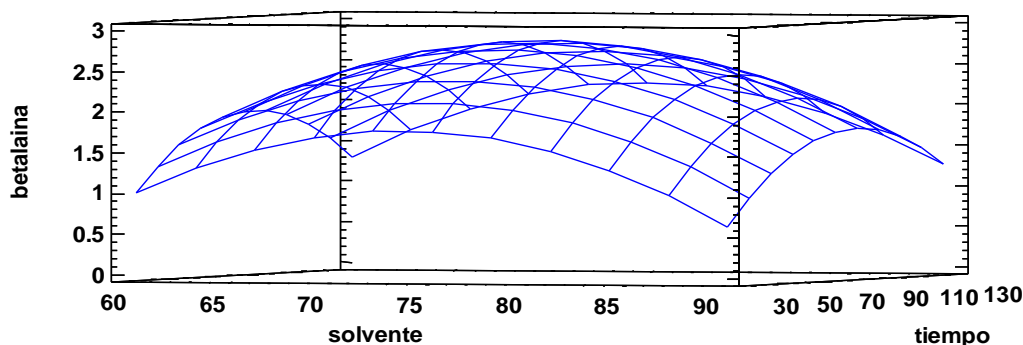


Figura 14. Superficie de respuesta estimada

Fuente: Statgraphics (2011).

Contornos de la Superficie de Respuesta Estimada  
materia prima=10.0

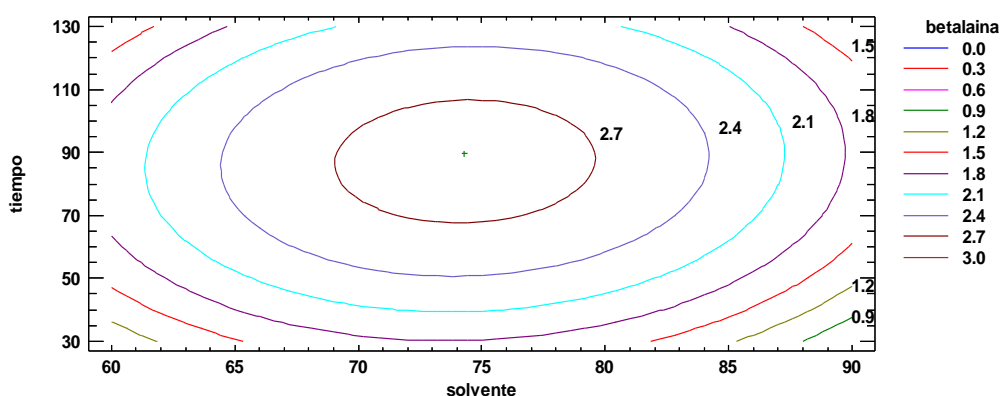


Figura 15. Contorno de superficie de respuesta estimada.

Fuente: Statgraphics (2011).

Se presenta la gráfica de superficie de respuesta estimada en forma tridimensional, la cual indica que se alcanza la mayor obtención de betalaina cuando se disminuye la concentración del solvente hasta 70 % y se incrementa el tiempo hasta 80min y manteniendo constante la materia prima a 10 g.

**RESPUESTA OPTIMIZADA.**

Meta: maximizar la obtención de betalainas

Valor óptimo = 0.285313 mg/g

**Tabla 34.** Resultados de las variables óptimas.

Factor	Bajo (-)	Alto(+)	Óptimo
solvente	60.0	90.0	74.6974
tiempo	30.0	120.0	89.8639
materia prima	5.0	15.0	11.194

Fuente: Statgraphics (2011).

**En la tabla 34.** Se muestra la combinación de los valores bajos y altos de las variables independientes con el fin de obtener los valores óptimos que maximicen la obtención de betalainas. Los parámetros óptimos del proceso de obtención del colorante son: concentración del solvente 75%, tiempo extracción 90 min. y materia prima de 11.2 gr, para obtener 0.285 mg/11.2 gramos de betalaina como colorante natural.

## ANEXO B

### PREPARACIÓN DE SOLUCIÓN DESINDECTANTE DE HIPOCLORITO DE SODIO AL 5 %

Para la desinfección del fruto preparamos 5 litros de solución desinfectante al 3 %. Compramos cloro de una marca comercial de concentración 8 % Por la ecuación de disolución hacemos el siguiente cálculo:

$$Cd * Vd = Cc * V$$

Donde:

Cd: Concentración deseada (3 %)

Vd: Volumen de la solución a preparar 5 litros = 5000ml

Cc: Concentración conocida de hipoclorito de sodio comercial o uso doméstico 8%.

V= Volumen en mililitros de la solución conocida al 8% (hipoclorito de sodio)

$$V = \frac{3\% * 5000\text{ml}}{8\%} = 1875 \text{ ml de hipoclorito de sodio}$$

Para la preparación de 5 litros de solución desinfectante al 3 %, será necesario 1875 ml de hipoclorito de sodio lo resto se completa con agua.



**ANEXO C****PREPARACIÓN SOLVENTE A DIFERENTES CONCENTRACIONES**

El solvente de extracción empleado es el etanol de una concentración de 99.8 %. Para la preparación de las soluciones empleamos la ecuación de disolución:

$$C_d * V_d = C_c * V$$

Donde:

Cd: Concentración deseada

Vd: Volumen de la solución a preparar

Cc: Concentración conocida

V= Volumen en mililitros de la solución conocida

**ANEXO D****EVALUACIÓN ORGANOLÉPTICA DE LA CASCARA DE TUNA:**

<b>Característica</b>	<b>Resultado</b>
Color	Parte externa rojo oscuro, interior purpura
Olor	Característico al fruto
Sabor	Ligeramente dulce
Aspecto	Fibroso

**Fuente:** Elaboración propia.

**ANEXO E****CALIBRACIÓN DEL ESPECTROFOTÓMETRO 20802 UV/VIS CON SOLUCIÓN PERMANGANATO DE POTASIO (KMNO4)****MÉTODO DE CALIBRACIÓN POR EXACTITUD FOTOMÉTRICA**

La exactitud fotométrica es determinada comparando la diferencia entre la absorbancia medida del material estándar de referencia y el valor estándar establecido.

**Soluciones estándar de calibración**

- **Solución de permanganato de potasio:**

Pesar 0.0008 g de permanganato disolver con 1.5 ml de ácido sulfúrico y aforar con agua destilada hasta 100 ml. La solución estándar preparada tiene exactitud fotométrica 1.348 Abs. y una longitud de onda 525.2 nm.

➤ **Solución de dicromato de potasio:**

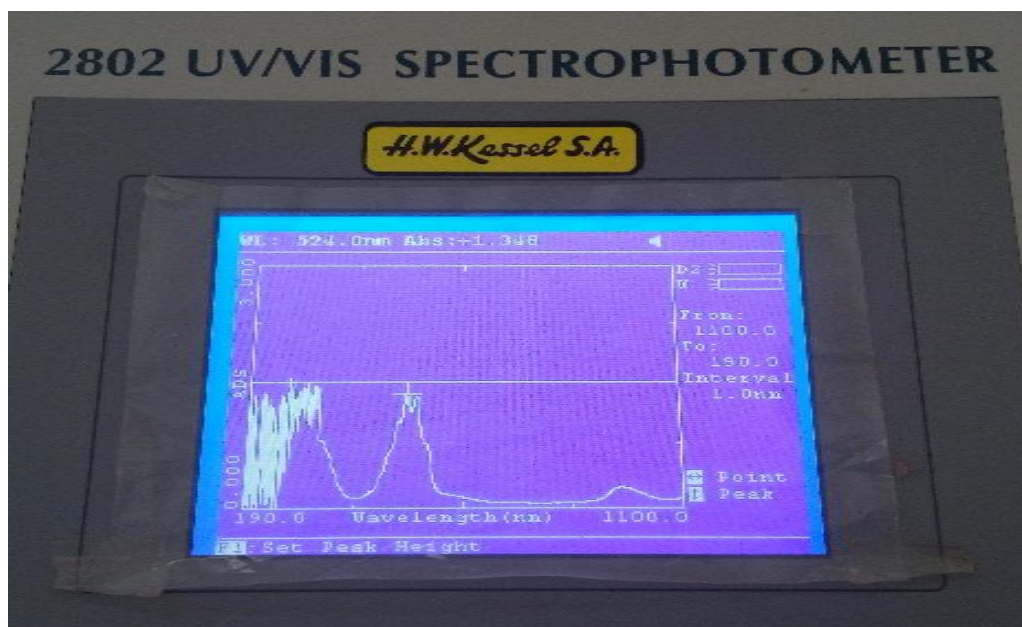
Secar aproximadamente 1 g de dicromato al 99.95 %, en una estufa a 105 °C por 2 horas y enfriar en desecador. Pesar 0.10 g y disolver en un vaso de precipitados con la ácido sulfúrico 0.0005 mol/l. trasvasar cuidadosamente a un matraz de un litro, enrasar a 100 ml con ácido sulfúrico. La exactitud fotométrica de la solución es 0.18 Abs. y una longitud de onda 435.2 nm.

Realizar las lecturas y la comprobación de los valores de la solución estándar.

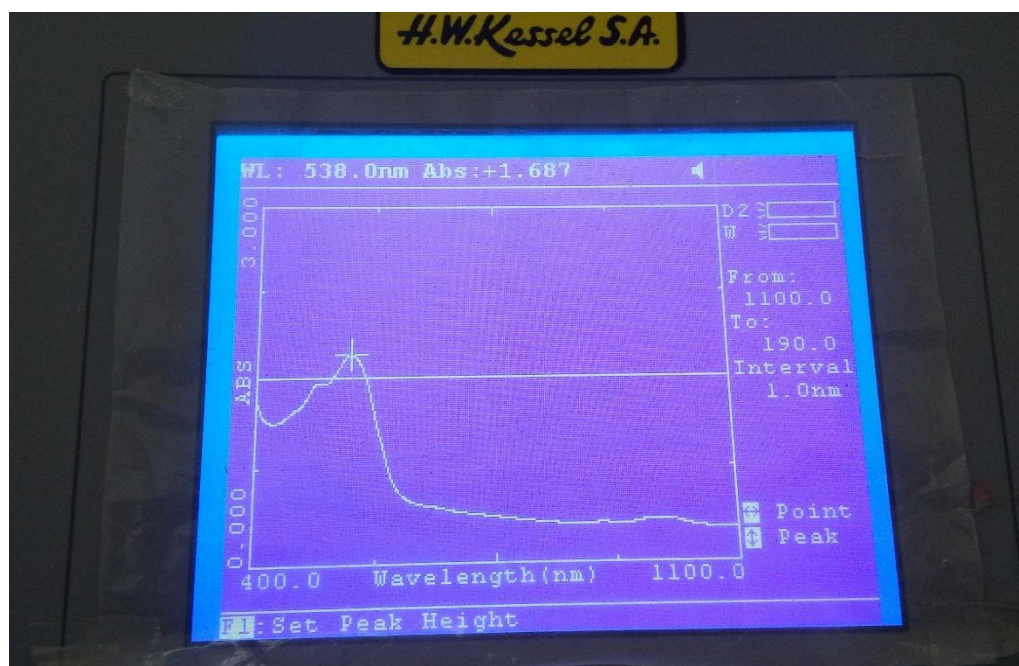
Criterio de aceptación: Exactitud típica de  $\pm 0.01$  o rango de valores de absorbancia específicas.



Al realizar la comprobación de la solución estándar en el ESPECTOFOMETRO 20802 UV/VIS se observa en la imagen que la exactitud fotométrica tiene como valor 1.348 Abs y 524.0 nm estos valores están dentro del rango de aceptación.



**DETERMINACIÓN LOS ESPECTROS DE ABSORCIÓN A 538 nm Y 483 nm PARA BETACIANINAS Y BETAXANTINAS RESPECTIVAMENTE**





**ANEXO F**

**IMÁGENES DE EL PROCESO DE OBTENCION DEL COLORANTE NATURAL  
(Betalainas)**

**SELECCIÓN DE MATERIA PRIMA**



**LAVADO**



**PREPARACION DEL SOLVENTE**



**PESADO DE LA MUESTRA**



**MEDICIÓN DEL PH**



**EXTRACCIÓN SÓLIDO-LÍQUIDO**



**FILTRADO**



**CUANTIFICACIÓN DE BETALAINAS  
POR ESPECTOFOMETRIA**





**CONCENTRACIÓN DEL COLORANTE OBTENIDO EN UN EQUIPO RATABAPOR CON BAÑO MARIA**



**APLICACIÓN DEL COLORANTE EN  
YOGURT NATURAL (DIA 2)**

**DIA 4**



DIA 8



DIA 10



IMÁGENES DE APLICACIÓN DEL COLORANTE EN HELADO

Día 1





Día 2



Día 3



Día 4



Día 5





ANEXO G

CERTIFICADOS DE CALIDAD DEL ALCOHOL ANHIDRO



COMERCIAL LAZO ROMO

ALCOHOL ANHIDRO

		COA	2101	Orden de Compra	
C L I E N T E					
NAYHUA YANA, CANDELARIA MILAGROS				06/11/2017	
GUIA		FACTURA	B0010000353	LOTE	073-39ML-3-0817
FECHA DE INGRESO	02-ago-17	FECHA DE VENCIMIENTO	02-ago-19	CODIGO	30H-LVT-BR
Informe de Laboratorio					
Materia Prima	Derivada de mezcla de caña de azucar				
E V A L U A C I O N      S E N S O R I A L					
A N A L I S I S		E S P E C I F I C A C I O N E S		R E S U L T A D O	
Aspecto		Liquido transparente, incoloro		Conforme	
Olor		Caracteristico, propio del alcohol etilico fuerte a caña		Conforme	
Miscibilidad en agua		Si		Conforme	
ANALISIS      F I S I C O      Q U I M I C O					
DESCRIPCION		Especificacion		Resultado	
Grado Alcohólico a 20°C; °GL ( % Vol )		Minimo 99.8		99.8	
Densidad a 20 °C ; gr / cm <sup>3</sup>		Maximo 0.7918		0.7903	
Acidez Acetica (mg/100ml AA)		Maximo 5.0		1.00	
Acetato Etilo (mg/100ml AA)		Maximo 50.0		0.00	
Aldehidos, como acetaldehido (*)		Maximo 5.0		0.19	
Alcoholes Superiores (mg/100ml AA)		Maximo 250.0		143.21	
Furfural, como furfural		Maximo 0.1		NO DETECTABLE	
Metanol, como metanol ( * )		Maximo 10.0		2.98	
Congéneres		Maximo 310.0		0.00	
Humedad %, Método Kart Fisher		Máximo 0.5		0.19	
( * ) mgr. en 100 ml. de alcohol 100 %					
Observaciones					
NO APTO PARA CONSUMO HUMANO					
Análisis realizado por Ing. Néstor Gallardo H. Jefe Aseguramiento de la Calidad					

**Néstor Gallardo Huaccha**  
 Jefe de Aseguramiento de la Calidad

Calle Luis Galvani 464, Ate - Lima  
 Telefax: 436-4477 / 435-2477  
[www.colaromo.com](http://www.colaromo.com)



**COLAROMO** S.  
R.  
L.

Comercial Lazo Romo

### Hojas de Datos de Seguridad

Material Safety Data Sheet (MSDS)

Fecha: 12.12.2016/ Revisión: 07

#### ALCOHOL ETILICO RECTIFICADO 96 % Vol.

##### 1.- Identificación del producto/empresa

###### Identificación del producto:

Denominación: ALCOHOL ETILICO RECTIFICADO 96.0% VOL

Chemical Abstracts Systems :CAS: 64-17-5

Naciones Unidas: UN 1170

Fórmula Química : C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>-OH

Comunidad Europea: 200-578-6

###### Uso del producto:

Disolvente, desinfectante, para sintetizar productos farmacéuticos, síntesis de productos orgánicos, perfumería, industria alimentaria, industria de limpieza, colorantes, anticongelante.

###### Identificación de la empresa:

Comercial Lazo Romo SRL

Luis Galvani 464 - Urb. Ind. Santa Rosa - Ate

Lima - Perú

Teléfono (01) 436-4477

Web: www.colaromo.com

##### 2.-Composición/Información de los componentes

Sinónimos: Etanol, alcohol de melaza, alcohol hidratado, alcohol de fermentación.

Peso molecular: 46,07

Alcohol etílico 96.0 % Vol./Vol. CAS 64-17-5

Agua 4.0 % CAS 7732-18-5

##### 3. Identificación de los riesgos

###### Fácilmente inflamable.

Escala NFPA (0,4); Salud mínima = 0, Inflamabilidad = 3 (severo)

###### Efectos potenciales sobre la salud de una exposición aguda

**Inhalación:** puede causar irritación de las mucosas, puede crear dificultad para respirar, dolores de cabeza, somnolencia, embriaguez y excitación nerviosa.

**Contacto con la piel:** puede causar irritación.

**Contacto con los ojos:** Puede causar irritación.

**Ingestión:** puede causar inflamación de la boca, sarpullido, descenso de la temperatura corporal, vomito, desordenes digestivos, defecación y orina involuntaria, baja presión sanguínea, latidos de corazón irregulares, dolores de cabeza, somnolencia, embriaguez.

##### 4. Medidas de primeros auxilios:

**Indicaciones generales:** En caso de pérdida del conocimiento nunca dar a beber ni provocar el vómito.

**Inhalación:** Trasladar a la persona al aire libre. Si es necesario dar respiración artificial. En caso de que persista el malestar, pedir atención médica.

**Contacto con la piel:** Lavar abundantemente con agua por lo menos 20 minutos. Quitarse las ropas contaminadas.

**Contacto con los ojos:** Lavar con agua abundante manteniendo los párpados abiertos.

**Ingestión:** Beber agua abundante. Provocar el vómito. No administrar carbón animal. No beber leche. Pedir atención médica.

##### 5.- Medidas en caso de incendio

**Medios de extinción adecuados:** Dióxido de carbono.

Espuma. Polvo seco.

**Medios de extinción que NO deben utilizarse por razones de seguridad:**

No agregar agua a la llama en depósitos abiertos, en el alcohol se mantiene llama por encima de 65 % Vol.

Se recomienda enfriar los contenedores, rociando con agua desde una distancia segura.

**Riesgos especiales** Inflamable. Mantener alejado de fuentes de ignición. Los vapores son más pesados que el aire y pueden viajar a fuentes de ignición lejana y regresar con llama. Los vapores forman fácilmente mezclas explosivas con el aire.

**Equipos de protección:** Equipo de aire autocontenido

##### 6.- Medidas en caso de derrames o fugas

###### Precauciones individuales:

Evitar producir chispas. Mantener alejado al personal no autorizado. Permanezca en dirección del viento.

Manténgase alejado de las áreas bajas. Ventile los espacios cerrados antes de entrar.

**Protección del medioambiente:** No permitir que el alcohol etílico entre a lugares cerrados como el sistema de alcantarillado puede ocasionar explosión.

**Métodos de recogida/limpieza:** Recoger con materiales absorbentes o en su defecto arena o tierra secas y depositar en contenedores para residuos para su posterior eliminación de acuerdo con las normativas vigentes.

##### 7.- Manipulación y almacenamiento

**Manipulación:** Tomar medidas para prevenir riesgo de inflamación por acumulación de cargas electrostáticas. Prohibido el uso de celulares o radios.

**Almacenamiento:** Recipientes bien cerrados, en lugar bien ventilado, mantener alejado de fuentes de ignición y calor. Temperatura ambiente(máxima 30°C): Mantener ambiente ventilado, eliminando acumulación de vapores.

##### 8.- Controles de exposición y protección personal

**Medidas técnicas de protección:** Asegurar una buena ventilación y renovación de aire del local.

**Control límite de exposición:** VLA-ED: 1000 ppm ó 1910 mg/m<sup>3</sup>

**Protección respiratoria:** En caso de formarse vapores /aerosoles, usar equipo respiratorio adecuado. Filtro P. Filtro A.

**Protección de las manos:** Usar guantes apropiados (neopreno, nitrilo, PVC)

**Protección de los ojos:** Usar gafas apropiadas.

**Medidas de higiene particulares:** Quitarse las ropas contaminadas. Lavarse las manos antes de las pausas y al finalizar el trabajo.

**Exposición al medioambiente:** Cumplir con la legislación local vigente sobre protección del medio ambiente.

El proveedor de los medios de protección debe especificar el tipo de protección que debe usarse para la manipulación del producto, indicando el tipo de material y, cuando proceda, el tiempo de penetración de dicho material, en relación con la cantidad y la duración de la exposición.



**9.- Propiedades físicas y químicas**

**Aspecto:** Líquido transparente e incoloro.  
**Olor:** Característico, agradable.  
**Sabor:** Ardiente  
**Punto de ebullición:** 78,5°C  
**Punto de fusión:** -117,0°C  
**Punto de inflamación:** 12.8 °C  
**Temperatura de auto ignición:** 422°  
**Límites de explosión (inferior/superior):** 3,3 / 19 Vol. %  
**Presión de vapor:** (Aire=1.0): 1,59  
**Densidad (20/4):** 0,8  
**Solubilidad en agua:** Completa  
**Volatilidad:** 100 %  
**Umbral de olor:** 5 - 10 ppm.  
**Velocidad de evaporación** (tetracloruro de carbono=1):1,4  
**Viscosidad:** 1,22 cp 20°C  
**Solubilidad en solventes:** benceno, éter, acetona, cloroformo, metanol y otros solventes orgánicos.

**10.- Estabilidad y reactividad**

**Condiciones que deben evitarse:** Temperaturas elevadas.  
**Materias que deben evitarse:** Metales alcalinos. Oxidos alcalinos. Agentes oxidantes fuertes como permanganatos, ácido sulfúrico, nítrico, crómico, percloratos y cloratos.  
**Información complementaria:** Los gases/vapores pueden formar mezclas explosivas con el aire.

**11.- Información toxicológica**

**Toxicidad aguda:** DL50 oral rata: 7060 mg/kg  
**Efectos peligrosos para la salud:** Por inhalación de vapores: Irritaciones en mucosas leves.  
**Riesgo de absorción cutánea:** puede ocasionar resecaamiento de la piel o dermatitis  
**Por contacto ocular:** irritaciones leves, a concentraciones de menores a 10000 ppm puede causar irritación temporal de los ojos, concentración de 15000 ppm. Puede causar lagrimeo, quemaduras y daño temporal de la cornea, la cicatrización es espontánea y completa.  
**Por ingestión:** Puede provocar náuseas, vómitos, pérdida de peso, intoxicación crónica, cambios degenerativos en el hígado, riñones, cerebro.  
**Efectos sistémicos** embriaguez, vértigo, narcosis, parálisis respiratoria.

**12. Información Ecológica**

**Ecotoxicidad:** Test EC50 (mg/l):  
 Bacterias (Photobacterium phosphoreum) = 47000 mg/l; Clasificación: Tóx.  
 Algas (Sc. cuadrada) = EC0 >5000 mg/l; Clasificación: Tóx.  
 Algas (M. aeruginosa) = EC0 >1450 mg/l; Clasificación: Tóx.  
 Crustáceos (Daphnia Magna) = EC0 >7800 mg/l; Clasificación: Tóx.  
 Peces = >10.000 mg/l; Clasificación: Tóxico o poco tóxico.  
**Medio receptor:** Riesgo para el medio acuático = Bajo  
 Riesgo para el medio terrestre = Bajo  
**Observaciones:** Compuesto no ecotóxico si la concentración del vertido no es muy elevada.  
**Degradabilidad:** DBO5/DQO Biodegradabilidad: Alta, más de 1/3  
 Degradación abiótica según pH: -  
 Observaciones: Producto fácilmente biodegradable.  
**Acumulación:** Producto no bioacumulable.  
**Otros efectos sobre el medioambiente:** Producto no contaminante.

**13. Consideraciones sobre la eliminación**

Los restos de productos químicos y materiales peligrosos deberán eliminarse de acuerdo a la legislación y/o reglamentación local, estatal o nacional vigente.  
 Alcohol: En caso de derrames de alcohol etílico, los restos son inflamables, pero inocuo al medio ambiente ya que no es toxico ni reactivo. Se evapora rápidamente, los restos deben ser recogidos con papel absorbente y depositados en envases cerrados. Si en el evento queda restos de alcohol o arena húmeda de alcohol, lavar con abundante agua y custodiar hasta la evaporación total.  
 Envases: Los envases que han contenido alcohol etílico son inocuos, no presentan toxicidad ni reactividad Debe consultarse con el experto en desechos y las autoridades responsables, para evacuar y eliminar toda clase de peligro.

**14.- Información relativa al transporte**

**Terrestre (ADR):** Denominación técnica: ETANOL (ALCOHOL ETÍLICO)  
 ONU: 1170 Clase: 3 Grupo de embalaje: II  
**Marítimo (IMDG):** Denominación técnica: ETANOL (ALCOHOL ETÍLICO)  
 ONU: 1170 Clase: 3 Grupo de embalaje: II  
**Aéreo (ICAO-IATA):** Denominación técnica: Etanol  
 ONU: 1170 Clase: 3 Grupo de embalaje: II

Instrucciones de embalaje: CAO 307 PAX 305

**15.- Información reglamentaria**

**Símbolos**



Inflamable

**Indicaciones de peligro:**

**Frases R:** 11 Fácilmente inflamable.  
**Frases S:** 2-7-9-16 Manténgase fuera del alcance de los niños. Manténgase el recipiente bien cerrado. Consérvese el recipiente en lugar bien ventilado. Conservar alejado de toda llama o fuente de chispas - No fumar.

**16. Información adicional**

Los datos proporcionados en esta hoja fueron obtenidos de fuentes confiables y representan la mejor información conocida actualmente sobre la materia. Se entregan sin garantía expresa o implícita respecto de su exactitud o actualidad. Este documento debe utilizarse solamente como guía para la manipulación del producto con la precaución apropiada.  
 Colaromo SRL no asume responsabilidad alguna por reclamos, pérdidas o daños que resulten del uso inapropiado de la mercadería y/o de un uso distinto para el que ha sido concebida. El usuario debe hacer sus propias investigaciones para determinar la aplicabilidad de la información consignada en la presente hoja según sus propósitos particulares.

En caso de emergencia comunicar a :

Bomberos: 116  
 Srta. Yanina Martinez 436-4477

Revisado Néstor Gallardo Huaccha. 12.12.2016