UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

INFLUENCIA DE PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS EN LA EXTRACCIÓN DE PIGMENTOS DE AYRAMPO (*Opuntia Soehrensii* B.), SOBRE EL CONTENIDO DE FENOLES TOTALES, BETACIANINAS TOTALES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE.

TESIS

PRESENTADO POR:

BACH. ALEJANDRA GABRIELA APAZA YUCRA

Para optar el Título Profesional de:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

MOQUEGUA – PERÚ

2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA
FEDATARIO

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL

REGISTRO N°.....003.....

ACTA DE SUSTENTACIÓN

Los miembros del Jurado que suscriben, reunidos para evaluar la sustentación de tesis presentada por: ALEJANDRA GABRIELA APAZA YUCRA,

denominada: Influencia de parametros Fisicoquímicos en la extracción de pigmentos de ayrampo (opuntia soehrensii B.), sobre el contenido de fenoles totales, betacianinas totales y capacidad antioxidante, para cumplir con uno de los requisitos para optar el título profesional de INGENIERO AGROINDUSTRIAL.

Teniendo en consideración los méritos del referido trabajo así como los conocimientos demostrados por el sustentante, se declara la tesis como:

APROBADO

Con la nota de : DIECISEIS

Calificativo de : BUENO

En consecuencia de todos los actuados el Tesista queda APTO para poder recibir el título profesional de INGENIERO AGROINDUSTRIAL, de conformidad con lo establecido en el reglamento de grados y títulos de la Universidad Nacional de Moquegua.

Moquegua 20 de DICIEMBRE del 2017

Mg. Elías Escobedo Pacheco
PRESIDENTE DE JURADO

Ing. Hieronimo Martin Serco Burgos
PRIMER MIEMBRO DE JURADO

Ing. Lenin Quille Quille
SEGUNDO MIEMBRO DE JURADO

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL
UNAM

DEDICATORIA

A Dios.

Por haberme permitido llegar hasta este punto de mi formación profesional y por haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mi madre Genara

Por ser una persona importante en el desarrollo de éste trabajo de investigación debido a su paciencia, consistencia e infinito amor y sobre todo por sus palabras de aliento.

A mi padre Pedro

Por ser una persona muy consistente a pesar de los malos momentos siempre me enseñó a salir adelante sin tener nada y ser perseverante ante las adversidades.

AGRADECIMIENTO

Ante todo, agradezco a Dios por haberme permitido ver la luz de este mundo maravilloso, por la culminación de este trabajo y con ello las alegrías que le ha otorgado a mi existencia.

A mi asesor M.Sc. Mario R. Cotacallapa Sucapuca, y co – asesor M.Sc. Nils L. Huamán Castilla, quienes me brindaron su apoyo incondicional siendo ambos un gran ejemplo a seguir.

Al Dr. Hugo R. Valdivia Laos y Tomás J. Coayla Juárez, por haberme permitido realizar mis prácticas profesionales en Southern Perú Copper Corporatión y facilitarme el apoyo constante en la ejecución de dicho trabajo de investigación.

Al Ing. Erick Allca, MSc Mario Cotacallapa, MSc. Nils Humán, Mgr. Elías Escobedo e Ing. René Sosa por haberme apoyado en la ejecución del presente trabajo y a la vez por sus enseñanzas durante los cinco años universitarios.

A mis amigas, Milagros Miranda Laura y Cecilia Gallegos Laime, por sus palabras de aliento, y por cada abrazo brindándome las fuerzas para seguir y a Yersín E. García Ponce, por apoyarme en la ejecución y culminación de dicho trabajo; pero sobre todo, por su paciencia y palabras de aliento cuando sentía desmayar.

ABREVIATURAS

rpm	Revoluciones por minuto, también se abrevia RPM.
MINAGRI	Ministerio de Agricultura y Riego.
FDA	Administración de Alimentos y Medicamentos.
OMS	Organización Mundial de la Salud.
FRAP	Poder antioxidante reductor del hierro.
ff	Fruta fresca.
D.O.	Denominación de Origen.
EDTA	Ácido etildiaminotetraacético.
ppm	Partes por millón.
ciclo-DOPA	Ciclo – Dihidroxifenilalanina.
Aw	Actividad de Agua.
ORAC	Capacidad de absorción de radicales de oxígeno.
C.A.	Capacidad Antioxidante.
ABTS	Es el ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) o ABTS.
DPPH	Compuesto químico orgánico 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo.
AOAC	Asociación de Químicos Analíticos Oficiales o Asociación de Comunidades Analítica.
GAE	Equivalente de ácido gálico.

RESUMEN

El Ayrampo (*Opuntia Soehrensii B.),* es una cactácea que se encuentra en zonas áridas, y sus frutos son de color guinda oscuro. El color del fruto se debe a la presencia de betalaínas y fenoles totales.

En este estudio se analizó la influencia de parámetros fisicoquímicos en la extracción de pigmentos de ayrampo, sobre el contenido de fenoles totales que se evaluó con el Folin-Ciocalteu, betacianinas totales que se evaluó con el método propuesto por Cai y Corke (2000) y capacidad antioxidante utilizando la solución madre de ABTS. Para dicha extracción las semillas de ayrampo fueron llevadas a secar por 24 horas a 40°C; para después envasarlas en bolsas de polietileno con cierre hermético y cubiertas con papel aluminio. Para analizar la influencia de extracción se pesó 2g de semilla de ayrampo adicionando 20ml del solvente (0:100 y 80:20 de etanol 96° y agua) calibrando a un pH de 3 y 5 regulando con una solución al 1% de ácido cítrico. Después las muestras fueron homogenizada en un agitador Vortex a 750rpm y llevadas a una temperatura de 40°C y 80°C por un tiempo de 10min y 30min.

Los resultados indican que a altas concentraciones de etanol (< 50%), promueven la degradación de éstos compuestos; sin embargo el efecto del pH es inversamente proporcional en el contenido de fenoles y

capacidad antioxidante. A temperaturas mayores a 50°C reducen el contenido de betacianinas, fenoles y capacidad antioxidante debido al fenómeno de isomerización y descarboxilación de estos compuestos.

ABSTRACT

The Ayrampo (*Opuntia Soehrensii B*.) is a cactus that is found in arid areas, and its fruits are dark cherry. The color of the fruit is due to the presence of betalains and total phenols.

In this study the influence of physicochemical parameters was analyzed in the extraction of ayrampo pigments, on the content of total phenols that was evaluated with the Folin-Ciocalteu, total betacyanins that was evaluated with the method proposed by Cai and Corke (2000) was analyzed antioxidant capacity using the ABTS stock solution. For this extraction the ayrampo seeds were taken to dry for 24 hours at 40 ° C; to then pack them in polyethylene bags with airtight seal and covered with aluminum foil. To analyze the influence of extraction 2g of ayrampo seed was weighed adding 20ml of the solvent (0: 100 and 80:20 of ethanol 96° and water) calibrating to a pH of 3 and 5 regulating with a solution of 1% of citric acid . The samples were then homogenized on a Vortex shaker at 750rpm and brought to a temperature of 40°C and 80°C for a time of 10min and 30min.

The results indicate that at high concentrations of ethanol (<50%), they promote the degradation of these compounds; however, the effect of pH is inversely proportional in the content of phenols and antioxidant

capacity. At temperatures above 50°C they reduce the content of betacyanins, phenols and antioxidant capacity due to the phenomenon of isomerization and decarboxylation of these compounds.

ÍNDICE

DEDICATORIA iii
AGRADECIMIENTO iv
ABREVIATURAS v
RESUMEN vi
ABSTRACT viii
ÍNDICE x
INTRODUCCIÓN 1
CAPITULO I 3
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 3
1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA 3
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA 4
1.2.1. Interrogante general 4
1.3. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN 5
1.4. FORMULACIÓN DE OBJETIVOS 6
1.4.1. Objetivo general 6
1.4.2. Objetivos específicos 6
1.5. FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS 7
1.5.1. Hipótesis general 7
1.5.2. Hipótesis especifica 7
CAPITULO II 8
MARCO TEORICO 8
2.1. ANTECEDENTES 8
2.2. BASES TEÓRICAS 11
2.2.1. Ayrampo (Generalidades) 11
2.2.2. Producción de Ayrampo en Moquegua 13
2.2.3. Caracterización botánica 13
2.2.4. Composición química del ayrampo 14
2.2.5. Colorantes 14
2.2.6. Pigmento 17

2.2.7. Estabilidad 19
2.2.8. Polifenoles totales 24
2.2.9. Betalaínas 26
2.2.10. Estabilidad de las Betalaínas 27
2.2.11. Betacianina 29
2.2.12. Capacidad antioxidante 29
2.2.13. Tipos de extracción 30
2.2.14. Alimentos funcionales 32
2.2.15. Diseño factorial completo 2^k 32
2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS 34
2.3.1. Extracción 34
2.3.2. Solvente 34
2.3.3. Parámetros 35
2.3.4. Tratamientos 35
2.3.5. pH 35
2.3.6. Desviación estándar 36
2.3.7. Radicales libres 36
2.3.8. Espectrofotómetro 36
CAPITULO III 37
MARCO METODOLÓGICO 37
3.1. TIPO Y DISEÑO 37
3.2. NIVEL DE INVESTIGACIÓN 37
3.3. LUGAR DE EJECUCIÓN 37
3.4. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES 39
3.4.1. Variable independiente 39
3.4.2. Variable dependiente 40
3.5. POBLACIÓN Y MUESTRA 40
3.5.1. La población y muestra 40
3.6. TECNICAS E INSTRUMENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS 40
3.6.1. Materiales y métodos 40
3.7. MÉTODOS Y TÉCNICAS PARA LA PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE DATO 42

3.7.1. Metodología experimental 42
3.7.2. Análisis datos 56
CAPITULO IV 59
PRESENTACIÓN DE RESULTADOS 59
4.1. RESULTADOS Y DISCUSIONES 59
4.1.1. Resultado del análisis proximal de ayrampo 59
4.1.2. Impacto de las condiciones sobre el contenido de Fenoles totales. 60
4.1.3. Impacto de las condiciones de operación sobre el contenido de betacianinas. 69
4.1.4. Impacto de las condiciones de operación sobre la capacidad antioxidante. ... 78
4.1.5. Efectos de las condiciones generalizadas. 85
CAPITULO V 95
CONCLUSIONES 95
CAPITULO VI 98
RECOMENDACIONES 98
CAPITULO VII 99
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 99
ANEXOS 108

INDICE DE CUADROS

Cuadro N° 1: Producción de las semillas de Ayrampo. 13
Cuadro N° 2: Composición química de las semillas de ayrampo. 14
Cuadro N° 3: Análisis de capacidad antioxidante con 03 repeticiones 124
Cuadro N° 4: Análisis de Varianza para Capacidad antioxidante 125
Cuadro N° 5: Análisis de Varianza para Betacianinas.....125
Cuadro N° 6: Análisis de Varianza para fenoles totales 126

INDICE DE FIGURAS

Figura N° 1: Cambios estructurales de las antocianinas producidos por el pH. 22
Figura N°2: Estructura de las betalaínas en alimentos. 26
Figura N°3: Estructura de las betacianinas y betaxantinas. 27
Figura N° 4: Metodología del trabajo de investigación 43
Figura N° 5: Contenido de fenoles en función de tiempo y % etanol 62
Figura N° 6: Contenido de fenoles en función de temperatura (°C) y % etanol 64
Figura N° 7: Contenido de fenoles con respecto al tiempo (min) y pH. 66
Figura N° 8: Contenido de fenoles en función de la temperatura (°C) y tiempo (min). 67
Figura N° 9: Contenido de betacianinas en función de la temperatura y tiempo (min) 71
Figura N° 10: Contenido de betacianinas en función de la temperatura y etanol (%) 73
Figura N° 11: Contenido de betacianinas en función del tiempo (min) y etanol (%) 74
Figura N° 12: Contenido de betacianinas en función del tiempo (min) y pH 75
Figura N° 13: Efecto de a temperatura y tiempo sobre la capacidad antioxidante 80
Figura N° 14: Efecto del pH y tiempo sobre la capacidad antioxidante 82
Figura N° 15: Efecto del contenido de etanol y Temperatura sobre la capacidad antioxidante 83

INDICE DE FOTOGRAFÍA

Fotografía N° 1: Semillas de ayrampo.....108
Fotografía N° 2: Estufa utilizada para secar las semillas de ayrampo. 109
Fotografía N° 3: Materiales utilizados para la extracción del colorante.....109
Fotografía N°4:Agitadores magnéticos trabajando a 750 rpm a diferentes temperaturas.....110
Fotografía N° 5: Materiales de vídrios utilizados para los análisis. 110
Fotografía N° 6: Envases conteniendo el extracto de semillas de ayrampo. 111
Fotografía N° 7: Tubos de ensayos con los extractos de ayrampo, preparadas para realizar los análisis. 111
Fotografía N° 8: Muestras con extracto de semillas de ayrampo.....112
Fotografía N° 9: Tubos con muestras para realizar los análisis. 112

INDICE DE TABLA

Tabla N° 1: Matriz de experimentos para los diseños factoriales completo 2^2, 2^3 y 2^4. 33
Tabla N° 2: Operacionalización de variables 39
Tabla N° 3: Valores máximos y mínimos de los indicadores independientes. 39
Tabla N° 4: Unidades de los indicadores dependientes 40
Tabla N° 5: Condiciones de las muestras a analizar para la extracción de los pigmentos....46
Tabla N° 6: Factores experimentales 56
Tabla N° 7: Diseño estadístico 2^k, con niveles codificados. 57
Tabla N° 8: Diseño estadístico 2^k, con parámetros reales....58
Tabla N° 9: Resultados de los análisis físico-químicos del ayrampo. 59
Tabla N° 10: Resultados del efecto de las condiciones de operación sobre el contenido de fenoles....61
Tabla N° 11: Resultados del efecto de las condiciones de operación sobre el contenido de Betacianinas. 70
Tabla N° 12: Resultados del efecto de las condiciones de operación sobre la capacidad antioxidante. 79
Tabla N° 13: Condiciones realizadas a las muestras de mayor y menor cantidad de fenoles....87
Tabla N° 14: Condiciones realizadas a las muestras de mayor y menor cantidad de betacianinas totales. 90
Tabla N° 15: Condiciones realizadas a las muestras de mayor y menor cantidad de capacidad antioxidante. 93

INDICE DE ANEXO

Anexo N° 1: Panel fotográfico. 108
Anexo N° 2: Curva y ecuación del ácido gálico para calcular los compuestos fenólicos. 113
Anexo N° 3: Curva de Trólox 114
Anexo N° 4: Resultados del examen fisicoquímico de las semillas de ayrampo. 115
Anexo N° 5: Método de YATES (Fenoles Totales). 116
Anexo N° 6: Puntos centrales (Fenoles). 117
Anexo N° 7: Método de YATES (Betacianinas). 118
Anexo N° 8: Puntos centrales (Betacianinas) 119
Anexo N° 9: Método de YATES (Capacidad antioxidante). 120
Anexo N° 10: Puntos centrales (Capacidad antioxidante). 121
Anexo N° 11: Resultados de las repeticiones realizadas para cada análisis. 122
Anexo N° 12: Análisis de Varianza. 125
Anexo N° 13: Diagrama de Pareto para Capacidad antioxidante 127
Anexo N° 14: Diagrama de Pareto para Fenoles totales. 127
Anexo N° 15: Diagrama de Pareto para Betacianinas. 128

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico N° 1: Proceso de acondicionamiento y extracción de los pigmentos de ayrampo. 47
Gráfico N° 2: Proceso del Análisis de Fenoles Totales. 50
Gráfico N° 3: Proceso del Análisis de Betacianinas Totales. 52
Gráfico N° 4: Proceso del Análisis de Capacidad antioxidante. 55
Gráfico N° 5: Efecto de las condiciones con respecto a la cantidad de Fenoles promedio. 86
Gráfico N° 6: Efecto de las condiciones con respecto a la cantidad de betacianinas totales. 89
Gráfico N° 7: Efecto de las condiciones con respecto a la capacidad antioxidante. 92
Gráfico N° 8: Efecto de las condiciones de extracción con respecto a los fenoles totales, betacianinas y capacidad antioxidante. 94

INTRODUCCIÓN

El Ayrampo del género *Opuntia Soehrensii B*. se caracteriza por desarrollarse entre los 2 300 y 4 000 m.s.n.m. en condiciones de temperatura desde 17 a 21°C, clima característico del sur y centro del Perú. Sus frutos presentan altas concentraciones de pigmentos naturales conocidas como betalaínas, fenoles y capacidad antioxidante los cuales son hidrosolubles.

Hoy en día existen diversos trabajos que caracterizan el contenido proximal y algunas características físicas de las semillas del ayrampo (Morales y Aguirre, 2001; Morales, 2006). Por tanto, dada la importancia de estos frutos del ayrampo, obtener extractos ricos en polifenoles y betacianinas es una alternativa atractiva para la revalorización de este producto andino.

Diversos estudios han planteado el uso de métodos de extracción solido líquido para la obtención de estos compuestos, usando como solventes metanol, acetona y hexano (Morales y Aguirre, 2001; Morales, 2006); no obstante el uso de solventes tóxicos limita su uso como ingrediente alimentario. Frente a este escenario, el uso de solventes de grado alimentario (etanol y agua) es una alternativa ecológica y económicamente atractiva.

También es importante estudiar los parámetros de extracción para impulsar su desarrollo como fuente de compuestos antioxidantes. Por ello, el objetivo de éste trabajo fué determinar la influencia de los parámetros fisicoquímicos en la extracción (nivel de concentración del solvente, pH, temperatura y tiempo de exposición) sobre el contenido de fenoles totales, betacianinas totales y capacidad antioxidante de las semillas de ayrampo (*Opuntia Soehrensii B*.).

CAPITULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

Estudios epidemiológicos demostraron que el consumo regular de frutas y verduras con altos contenido de compuestos antioxidantes están asociados en la prevención de enfermedades crónicas tales como cáncer, alzheimer, derrames cerebrales, cataratas o el deterioro funcional asociado a la edad (Tesoriere L, *et al*., 2004).

El ayrampo es una fruta del *Opuntia Ficus* la cual han demostrado tener un alto contenido antioxidante expresado como betalaínas (10.3 mg/100 g de pulpa fresca) y polifenoles totales (42.4 mg EAG /100 g) (Sarmiento *et al*., 2003).

El ayrampo se desarrolla entre los 2 300 a 4 000 m.s.n.m., cuyas condiciones climáticas se encuentran en las zonas altas de la Región de Moquegua (Chuchusquea alta). Este fruto se ubica en las riberas de los montes, dónde no es necesario utilizar agua para su producción sólo se debe de tener un suelo adecuado para éste fruto. En la actualidad el ayrampo *(Opuntia Soehrensii B.)* es utilizado como

remedio casero e infusiones en la dieta común de los pobladores de estas zonas (MINAGRI, 2010).

Sin embargo no se está aprovechando al máximo todos sus beneficios, sus características físicas y químicas.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Los extractos acuosos de semillas de ayrampo (*Opuntia Soehrensii B*.) constituyen una buena fuente de pigmentos (betacianinas), polifenoles y antioxidantes naturales. Sin embargo existe poca información sobre técnicas de extracción como también los parámetros de extracción que permitan recuperar la mayor proporción de betalaínas (betacianinas), fenoles y capacidad antioxidante.

Este estudio informativo ayudará a identificar la influencia existente de los parámetros sobre el contenido de los compuestos, con la finalidad promover procesos a pequeña escala y así revalorar las semillas de ayrampo. Por tanto es necesario desarrollar métodos de extracción y purificación. Por ello el presente trabajo de investigación se plantea las siguientes interrogantes:

1.2.1. Interrogante general

¿Cuál es la influencia de los parámetros fisicoquímicos sobre el contenido de fenoles totales, betacianinas totales y capacidad antioxidante en los pigmentos de las semillas de ayrampo (*Opuntia Soehrensii* B.)?

1.3. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN

Los colorantes sintéticos tienen efectos colaterales dañinos para la salud, por lo que se buscan utilizar colorantes naturales para sustituirlos, sin embargo estos colorantes no son muy utilizados debido a su alta inestabilidad durante su procesamiento y almacenamiento (Tesoriere L, *et al*., 2004).

El ayrampo contiene betalaínas de las cuales están conformadas por betacianinas y betaxantinas, que son pigmentos hidrosolubles con buenas características tecnológicas para ser utilizados en productos lácteos, bebidas, confitería y helados ya que imparten coloraciones que van del rojo al amarillo. Además su uso está aprobado desde 1960 por la FDA y OMS (Vargas, 2015).

Como se describió anteriormente los extractos acuosos de las semillas de ayrampo constituyen una buena fuente de pigmentos (betacianinas) y antioxidantes naturales. En particular, estos extractos muestran una buena estabilidad a los tratamientos térmicos y almacenamiento (Caldas-Cueva *et al*., 2015), por ende son una muy buena alternativa potenciar el uso de los extractos de semillas como fuente de antioxidantes y colorantes naturales para el creciente mercado de los alimentos funcionales e industria alimentaria.

Comprender el efecto de la temperatura y tipo de solvente permitirá optimizar el proceso de extracción de pigmentos de ayrampo (*Opuntia Soehrensii* B.); con la finalidad de diseñar equipos y procesos

a escala industrial; aprovechando el uso de esta importante fuente de materia prima de la región sur del Perú.

Es por ello que se ha propuesto en el presente trabajo investigar la influencia de los parámetros fisicoquimicos tales como el % del solvente (etanol 96°: agua), pH, temperatura y tiempo de exposición que permitirán obtener la mayor cantidad de betacianinas, capacidad antioxidante y fenoles totales de las semillas de Ayrampo (*Opuntia Soehrensii* B.).

1.4. FORMULACIÓN DE OBJETIVOS

1.4.1. Objetivo general

Evaluar la influencia de los parámetros fisicoquímicos sobre la extracción de pigmentos de ayrampo (*Opuntia Soehrensii B*.)

1.4.2. Objetivos específicos

Determinar la influencia de los parámetros fisicoquímicos % del solvente (0:100 y 80:20 de etanol 96° y agua), pH (3 y 5), temperatura (10°C y 30°C) y tiempo (10 y 30 min); en la extracción de pigmentos de ayrampo (*Opuntia Soehrensii B*.) sobre el contenido de fenoles totales, betacianinas totales y capacidad antioxidante.

1.5. FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS

1.5.1. Hipótesis general

Los parámetros fisicoquímicos influye en la extracción de los pigmentos de ayrampo *(Opuntia soehrensii B.).*

1.5.2. Hipótesis especifica

Los parámetros fisicoquímicos % del solvente (0:100 y 80:20 de etanol 96° y agua), pH (3 y 5), temperatura (10°C y 30°C) y tiempo (10 y 30 min) influyen en la extracción de pigmentos de ayrampo (*Opuntia Soehrensii B*.) sobre el contenido de fenoles totales, betacianinas totales y capacidad antioxidante.

CAPITULO II

MARCO TEORICO

2.1. ANTECEDENTES

Caldas-Cueva *et al.* (2015) Estudiaron los extractos de semillas de ayrampo, como fuente de pigmentos en yogurt natural, el extracto filtrado fue analizado a nivel del contenido de betacianinas, compuestos fenólicos totales y la capacidad antioxidante, dicho extracto fue añadido al yogurt natural, demostrando que el pH y las condiciones de almacenamiento no influyen en la retención del color de los yogures durante un periodo de 4 semanas, estos resultados demuestran que las semillas de ayrampo contienen compuestos fenólicos que contribuyen al color y pueden ser usados en una diversidad de alimentos, dada su estabilidad en pH ácidos y pueden ser un gran potencial como colorante natural para alimentos funcionales. López (2014) investigó el extracto hidroalcohólico de la pulpa del fruto de *Opuntia ficus Indica* "tuna morada", determinando la capacidad antioxidante mediante el método DPPH encontrando que los valores en tuna son similares a los de la vitamina C; asimismo la inhibición de la peroxidación lipídica por parte de los pigmentos en el microsoma hepático fue de 0,117µmol/mL,

frente a lo obtenido para la vitamina C que fue de 0,103 µmol/mL. Posterior a ello evaluó la estabilidad del extracto de la pulpa del fruto de *Opuntia ficus Indica* “tuna morada” en crema chantilly encontrando que a niveles de pH superiores a 5 la estabilidad del pigmento es mayor a 20 días.

Huaringa (2014) evaluó el efecto de las temperaturas de concentración sobre el contenido de betacianinas y capacidad antioxidante del concentrado de tuna ecotipo morado, demostrando que temperaturas alrededor de los 40°C no influyen significativamente sobre la estabilidad de las betacianinas en tuna, la capacidad antioxidante no mostro variabilidad en el estudio.

Montalvo (2016) determinó la capacidad antioxidante de *Opuntia soehrensii B.* (ayrampo) y de *Opuntia ficus* (tuna) determinando la cantidad de vitamina C, polifenoles totales y capacidad antioxidante (FRAP) utilizando la prueba de Mann-Whitney, concluyendo que el ayrampo tuvo una concentración de vitamina C (49,9 y 36,1mg de ácido ascórbico/100g ff), de polifenoles totales (107,3 y 68,7 mg de equivalente ácido gálico/100g ff) y capacidad antioxidante (1,1 y 0,7 mmoles de Fe- II/100g ff) mayor que la tuna. El ayrampo mostró mayor co-rrelación entre la capacidad antioxidante y la vitamina C (0,91 y 0,56), mientras que, la tuna tuvo mayor co-rrelación entre la capacidad antioxidante y los polifenoles totales (0,98 y 0,82).

Según el trabajo de investigación cuyo tema es “Evaluar la estabilidad de tres colorantes azules naturales utilizando diferentes temperatura y pH”; se obtuvo que, el color de la gardenia es estable a temperaturas mayores a 80°C en soluciones acuosas de pH’s 3, 5 y 7 degradándose en presencia de luz, mientras que las ficocianinas son inestables a temperaturas altas y a la luz en soluciones acuosas insoluble a pH 3 a la vez se desnaturaliza a 45°C a pH 5 y con la luz se degrada hasta un 80%. Mientras que el colorante índigo es estable en soluciones oleicas a temperaturas mayores a 90°C; al pasar ésta temperatura se degrada el 70% del color inicial (Jespersen *et al*., 2004).

Estudios recientes han demostrado que la encapsulación (cubrirlo de la luz) de colorantes naturales reduce significativamente la degradación del colorante aumentando su tiempo de vida media en condiciones variables de humedad (Beatus *et al*., 1985; Desobry *et al*., 1997; Selim *et al*., 2000; Wanger y Warthesen, 1995).

Un estudio realizado por Rebolo-Lopez (2007), donde estudió la composición polifenólica de vinos tintos gallegos con D.O. Ribeiro, Valdeorras y Ribeira Sacra. Obtuvo bajas correlaciones entre la capacidad antioxidante utilizando el método ABTS (2,2’azinobis 3-etilbenzotiazolin 6-ácido sulfónico) y los fenoles totales por medio de la metodología de Folin-Ciocalteu, para la D.O. Ribeira Sacra la correlación encontrada fue de r=0,498 mientras que para la D.O.

Ribeiro fue de r=0,748 y para la D.O. Valdeorras fue de r=0,751. Los resultados obtenidos para los vinos de las denominaciones de origen Ribeiro y Valdeorras concuerdan con los obtenidos por Arnous *et al*., (2002) que obtuvieron un coeficiente de correlación de 0,7 entre polifenoles totales y la actividad antioxidante, mientras que los vinos pertenecientes a la denominación de origen Ribeira Sacra presentan una correlación entre actividad antioxidante y fenoles totales mucho menor.

Desphande y Cheryan, (1985) publicó que el tiempo óptimo de extracción de polifenoles era de 50 - 60 minutos (Krygier *et al.,* 1982) utilizaron la mezcla de metanol/acetona/agua (7:7:6) a temperatura ambiente para la extracción de compuestos polifenolicos libres y esterificados. También es habitual encontrar en bibliografía la utilización de disolventes acidificados (metanol/HCl) para una mayor extracción y estabilidad de compuestos como las antocianidinas (Cacace y Mazza, 2002; Ju y Howard, 2003) y proantocianidinas (Deshpande y Cheryan, 1985; Price, *et al*., 1978).

2.2. BASES TEÓRICAS

2.2.1. Ayrampo (Generalidades)

El ayrampo (*Opuntia Soehrensii B*) es una especie silvestre herbácea, perenne, de tallos o pencas aplanadas y ovoidales; sus frutos son pequeñas bayas carnosas, las cuales contienen semillas que

presentan un color rojizo o vinoso característico en su etapa de maduración, su sabor es ligeramente dulce (Lock, 1997). Esta especie es originaria de los andes peruanos, en los departamentos de Ayacucho, Apurímac, Junín Puno y Moquegua; sus frutos son comestibles y de forma cacera son utilizados para dar color a postres, refrescos, y para el teñido artesanal de fibras de lana (Morales, 2007). Esta variedad tiene características físicas (ej. cactus) y químicas (ej. compuestos bioactivos) similares a la tuna (Lock, 1997).

El ayrampo se desarrolla a temperaturas de 12°C a 34°C, con un rango óptimo de 17°C a 23°C, y con una precipitación promedio entre 400 a 800 milímetros. Esta planta crece en suelos sueltos, arenosos, calcáreos y pedregosos. Sin emabargo los suelos altamente arcillosos y húmedos no son convenientes para su cultivo. Su proliferación se efectúa por medio de semillas o por propagación agámica (asexual) o también denominada "propagación por pencas", este último es el más común y consiste en plantar o enterrar pencas (Lock, 1994). El contenido de semillas en los frutos secos del ayrampo representa el 27.2% de peso total de muestra (semilla más pulpa). Adicionalmente éstas semillas se encuentran recubiertas por un tejido parenquimatoso que contiene el colorante, que representa el 3.5% de peso total (semilla más pulpa) (Sarmiento, 2003).

2.2.2. Producción de Ayrampo en Moquegua

El cuadro N°1 muestra la producción de Ayrampo (*Opuntia soherensii B*.) en la parte Alto Andina en la ciudad de Moquegua, dicha producción bordea las 2000 TM. y se mantiene estable en los últimos 3 años:

Cuadro N° 1: Producción de las semillas de Ayrampo.

Año	Producción de Ayrampo en la parte alto andina (TM)
2015	2 380.90
2014	2 203.20
2013	1 927.60
2012	2 605.30
2011	2,567.90
2010	2,549.30

*TM: Toneladas métricas

Fuente: Dirección Regional de Agricultura. – Moquegua (2017).

2.2.3. Caracterización botánica

Planta andina, medicinal, cuyas semillas, rojas, se emplean para teñir confituras y telas. Cuya clasificación taxonómica es la siguiente:

Reino: Plantae
División: Antofitas
Clase: Dicotiledóneas
Orden: Opuntiales Cactaceales
Familia: Cactáceas
Género: *Opuntia*
Especie: *Opuntia soherensii* (Britton & Rose)

2.2.4. Composición química del ayrampo

El fruto del ayrampo posee un valor nutricional superior al de otras frutas tales como el de la tuna, fresa y uva. Por ejemplo, presenta 1.2 % de grasas en comparación con la tuna que presenta 0,6%.

Cuadro N° 2: Composición química de las semillas de ayrampo.

DESCRIPCIÓN	CANTIDAD
Agua	70,5 g
Grasas	1,2 g
Cenizas	1,5 g
Proteínas	8,9 g
Azucares	5,6 g
Fibra	12,0 g
Vit. B1	0,1 mg
Vit. B2	0,32 mg
Vit. C	10,34 mg

Fuente: Morales (2007)

2.2.5. Colorantes

Son un tipo de aditivos alimentarios que brindan color, si se encuentra en los alimentos se llama colorante natural por otro lados si se añade color al alimento y existe influencia manual, se denomina colorante artificial. Hoy en día se utilizan mucho los colorantes sintéticos llamados así por ser obtenidos por procedimientos químicos de síntesis, los mismos que son cuestionados por su posible relación con enfermedades carcinogénicas (Moreno, 2004).

2.2.5.1. Clasificación de colorantes según su origen

Pueden clasificarse de acuerdo a su origen en dos grupos:

a) Colorantes inorgánicos:

Según Metarom (1997) menciona que los colorantes están constituidos por compuestos inorgánicos encontrados en la naturaleza. Los mismos se pueden modificar por métodos físicos como la pulverización o la desecación, (arcillas coloreadas por óxidos metálicos), mientras que otros son productos de fabricación industrial. Los colorantes se clasifican en:

- Naturales: son óxidos metálicos de amplio uso en cerámica y pintura.
- Sintéticos: son sales de metales como hierro, cobre, cromo y mercurio. Utilizados en la coloración de tejidos, cerámica, esmaltes, papeles y otros.

Según Alcántara (2015), los pigmentos inorgánicos pueden ser llamados también pigmentos minerales, y normalmente son componentes metálicos que se pueden obtener mediante tres métodos principales y son los que se obtienen a las más altas temperaturas, presentan una mayor estabilidad al calor y mejor resistencia al ambiente:

- Precipitación y Secado: Amarillos de cromo, Naranjas de cromo y de molibdato.
- Precipitación, Secado y Calcinación: Pigmentos de cadmio, Azul de ultramar.
- Calcinación de mezcla de óxidos: Titanato de níquel.

b) Colorantes orgánicos

Dentro de los colorantes orgánicos tenemos los siguientes grupos:

- Sintéticos: Son obtenidos por lo general por la destilación del alquitrán de hulla se conocen cerca de 2000, se clasifican de acuerdo al grupo funcional que contiene su molécula. Los más ampliamente usados son los azo-colorantes. Los colorantes sintéticos son muy utilizados por las excelentes propiedades como son:

  Proporcionar un color persistente.

  Ofrecer colores variados y uniformes.

  Tener colores de la intensidad que se desee.

  Ser de alta pureza y bajo costo.

  Se pueden obtener en grandes cantidades.

- De origen animal: En América el más importante es la púrpura proveniente de caracoles marinos. El rojo grana (ácido carmínico) proveniente de la cochinilla (*Coccus cacti L*).

- De origen vegetal: los colorantes están presentes en casi todas las plantas del mundo. De estos, unos son producidos directamente por la actividad fisiológica de las plantas, mientras que otros son producto de transformaciones sintéticas de sustancias de procedencia vegetal.

Estos colorantes eran los que hasta principios de siglo utilizaban las industrias textiles y que fueron sustituidos paulatinamente por los colorantes sintéticos. Ya que desde hace unos años se han prohibido algunos colorantes de origen sintético a nivel mundial debido a que han resultado tóxicas para el ser humano, el empleo de pigmentos naturales es de gran interés, especialmente aquellas sustancias provenientes de fuentes consideradas como no convencionales tales como microorganismos, algas, flores o madera de los cuales se pueden obtener una gama amplia de pigmentos.

2.2.6. Pigmento

Un pigmento es un material que cambia el color de la luz que refleja como resultado de la absorción selectiva del color. Este proceso físico es diferente a la fluorescencia, la fosforescencia y otras formas de luminiscencia, en las cuales el propio material emite luz. Muchos materiales selectivamente absorben ciertas ondas de luz, dependiendo de su longitud de onda. Los materiales que los seres humanos han elegido y producido para ser utilizados como pigmentos por lo general

tienen propiedades especiales que los vuelven ideales para colorear otros materiales. Un pigmento debe tener una alta fuerza teñidora relativa a los materiales que colorea. Además debe ser estable en forma sólida a temperatura ambiente.

Los pigmentos son utilizados para teñir pintura, tinta, plástico, textiles, cosméticos, alimentos y otros productos. La mayoría de los pigmentos utilizados en la manufactura y en las artes visuales son colorantes secos, usualmente en forma de polvo fino. Este polvo es añadido a un vehículo o matriz, un material relativamente neutro o incoloro que actúa como adhesivo. Para aplicaciones industriales, así como artísticas, la permanencia y la estabilidad son propiedades deseadas. Los pigmentos que no son permanentes son llamados fugitivos. Los pigmentos fugitivos se desvanecen con el tiempo, o con la exposición a la luz, mientras que otros terminan por ennegrecer.

Generalmente se hace distinción entre un pigmento, el cual es insoluble en el vehículo (formando una suspensión), y un tinte, el cual o es un líquido o es soluble en el vehículo (resultando en una solución). Un colorante puede ser un pigmento o un tinte dependiendo del vehículo en el que se usa. En algunos casos, un pigmento puede ser fabricado a partir de un tinte precipitando (un tinte soluble con una sal metálica).

2.2.7. Estabilidad

2.2.7.1. Estabilidad del pigmento

Uno de los principales inconvenientes en el uso de los colorantes naturales en alimentos es su baja estabilidad a factores normales de proceso como son luz, oxígeno, pH, temperatura, aniones, metales, disolventes, además de que el uso de pigmentos naturales, muestra algunos inconvenientes técnicos ya que son menos intensos que sus símiles sintéticos, ofrecen menor estabilidad y mayor dificultad en la reproducibilidad de color; lo que aumenta los costos unitarios. En ocasiones se imparten olores y sabores, nada adecuados. La composición de los extractos está influida por la época de cosecha y el almacenamiento. Por lo que se requiere encontrar colorantes naturales que sean estables a estos factores.

La explotación comercial de colorantes a través de fuentes naturales, está determinada por los bajos rendimientos de extracción, además de que su aplicación extensiva debe asegurarse antes con largos estudios toxicológicos (Francis, 1987).

Uno de los mayores esfuerzos en la obtención de colorantes naturales debe encaminarse a maximizar los rendimientos de las fuentes convencionales. Los métodos de extracción involucran el uso de solventes no polares, la estabilización con ácido cítrico, ácido ascórbico y antioxidantes ayudarían a reducir las pérdidas.

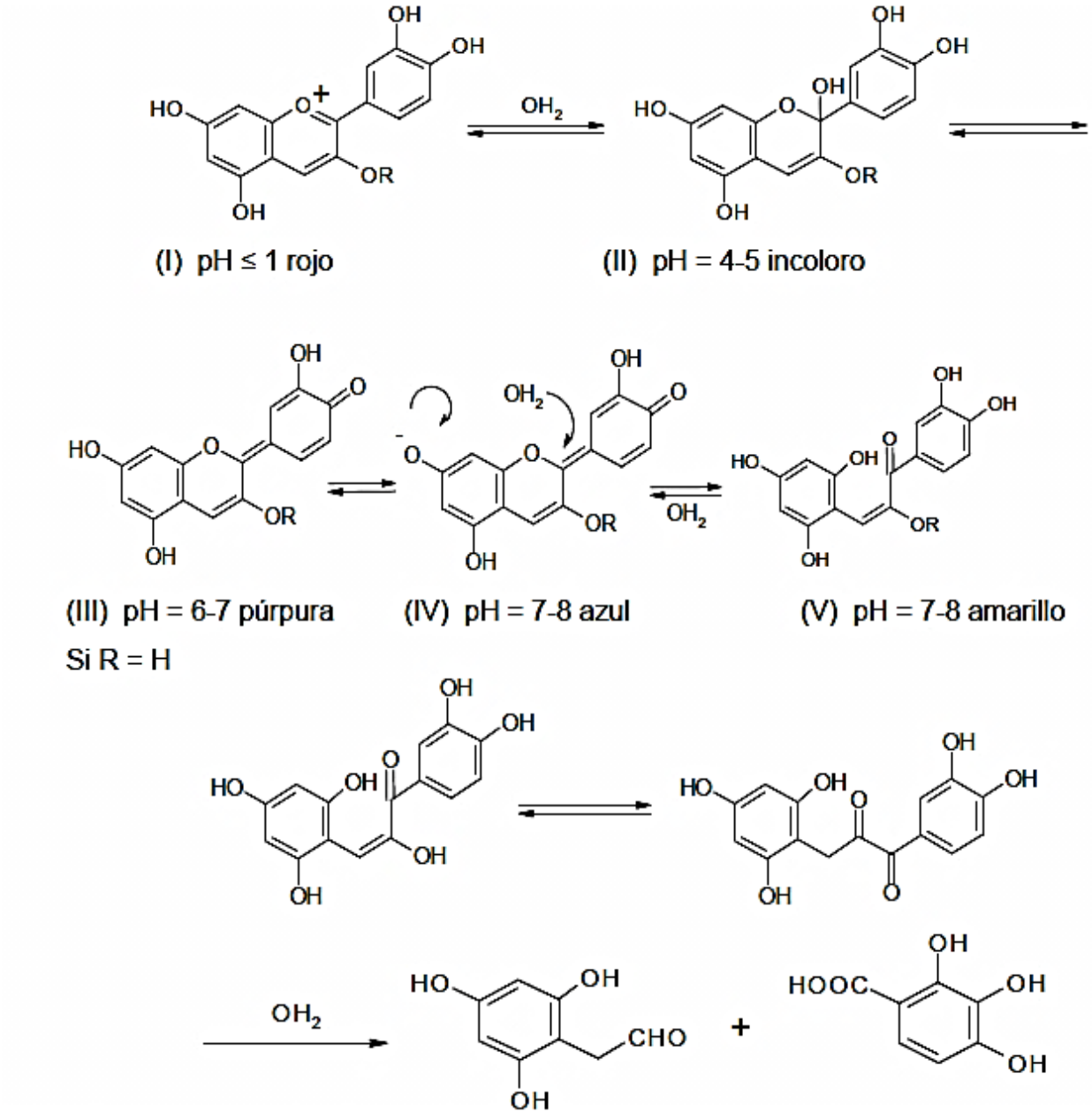
En cuanto a estudios reportados de estabilidad se referirá principalmente a las antocianinas y las betalaínas (Wissgott y Bortlik, 1996) ya que su estructura y comportamiento son semejantes al pigmento Neocandenatona con estos pigmentos. La betanina puede transformarse y perder su coloración bajo la influencia de factores como el pH, las temperaturas altas, el oxígeno, la luz y la actividad acuosa (Saguy *et al*.,1978; Von Elbe *et al*., 1974; Altamirano, 1993; Jiménez- Aparicio *et al*., 1997; Huang y Von Elbe, 1987).

Su estabilidad al calor está en función de la acidez y del oxígeno disuelto en el medio; los valores de pH de 4 a 6 son favorables y es resistente a los tratamientos térmicos en ausencia de este gas. La degradación térmica de la betanina en presencia de oxígeno sigue una cinética de primer orden, pero en ausencia del oxígeno la cinética es diferente (Attoe y Von Elbe, 1985). Se ha reportado que el tiempo de vida media a pH de 5 a 75°C en regulador de fosfatos es de 48 min., el cual disminuye en presencia de iones Fe^{3+} y Cu^{2+} a 33.4 y 6 min respectivamente; la presencia de antioxidantes como g-tocoferol y el ácido ascórbico no tienen efecto sobre la estabilidad. Secuestrantes como el ácido etildiaminotetraacético (EDTA) y el ácido cítrico a 10 000 ppm incrementaron el valor de tiempo de vida media en aproximadamente 1.5 veces el valor del control (Pasch y Von Elbe, 1979).

Las antocianinas son estables a pH menores de 3.5 y por arriba de este valor se degradan rápidamente. El color de una antocianina cambia con el pH del medio (R= azúcar). El catión flavilio (I) (Belitz, 1999) es estable solo a pH's muy bajos (Figura N°1). Cuando el pH se incrementa este es transformado en un cromenol incoloro (II).

La formación de una base quinoidal (III) y una base iónica (IV) a pH 6-8 intensifica el color. A pH 7-8 la estructura (IV) es transformada a través de la apertura del anillo a una chalcona amarilla (V). A pH's mayores, el color puede ser estabilizado por la presencia de iones multivalentes como Al^{3+} y Fe^{3+}. Cambios similares se producen en la Neocandenatona, aun cuando no se trata de una antocianina.

Figura N° 1: Cambios estructurales de las antocianinas producidos por el pH.



Temperaturas altas, el incremento en los niveles de azúcar, el ácido ascórbico y la luz afectan la velocidad de degradación. La cinética de degradación depende del tipo de antocianina, del sistema

utilizado y de la temperatura. Así la estabilidad del color de rábano rojo en sistemas modelo de jugos depende de la temperatura de almacenamiento, siguiendo un modelo cuadrático a 25°C y un modelo lineal a 2°C (Rodríguez-Saona *et al*., 1999). Un estudio sobre el efecto de la temperatura (50, 60, 70 y 80°C) y la concentración de sólidos solubles (15, 45 y 71 °Brix) a un pH menor a 3.5 en la degradación de las antocianinas en un concentrado y un jugo de cereza ácida, indicó que el deterioro del pigmento seguía una cinética del primer orden (Cemeroglu *et al*., 1994). Los tiempos de vida media de la antocianina a 70°C fueron 22.5, 10.9 y 5.9 horas para bebidas con 15, 45 y 71° Brix respectivamente.

Walkowiak y Czapski (2006), determinaron que el contenido de antocianinas de col roja desciende conforme existe un aumento de pH, temperatura, tiempo de almacenamiento y concentración de ácido ascórbico. La degradación del colorante es mayor en condiciones aerobias que anaerobias y en presencia de ácido ascórbico. Teniendo así que bajo condiciones anaerobias en ausencia de ácido ascórbico existe degradación de las antocianinas aproximadamente del 7% después de 30 días de almacenamiento a 20°C pH 3 y del 33% a pH 5. En presencia de ácido ascórbico (100mg/mL) en las mismas condiciones provoca una pérdida de 55% y 5% de antocianinas respectivamente. Mientras que bajo condiciones aerobias en ausencia de ácido ascórbico hay una degradación del 46 % a pH 3 y 70 % a pH

5; y en presencia de ácido ascórbico (100mg/mL) en las mismas condiciones hay una pérdida de 66% y 77% respectivamente (Walkowiak y Czapski, 2006).

De Rosso y Mercante en el 2006, determinaron que la adición de 276 mg de ácido ascórbico en solución de antocianinas de acerola (Crataegus azarolus) causa un aumento en el valor de k de degradación de 109 a 116 veces más comparada con una solución de antocianina sin fortificar. Esto ocurre principalmente por la condensación directa del ácido ascórbico sobre el carbono cuatro de la antocianina. La degradación de la solución de antocianinas en una atmósfera inerte fue de 1.3 a 1.4 veces menor que en aire (Rosso y Mercadante., 2006). También se encontró que hay una relación lineal entre la degradación del color con respecto al tiempo a las diferentes humedades relativas. Donde se observó que en un medio seco la constante de degradación para las antocianinas libres y encapsuladas fueron muy similares, mientras que en presencia de alta humedad las antocianinas libres presentaron una degradación más rápida que las antocianinas encapsuladas (Gradinaru *et. al*, 2003).

2.2.8. Polifenoles totales

Los compuestos polifenólicos son los compuestos bioactivos antioxidantes más abundantes en la dieta. Se trata de un amplio grupo de compuestos, producto del metabolismo secundario de las plantas,

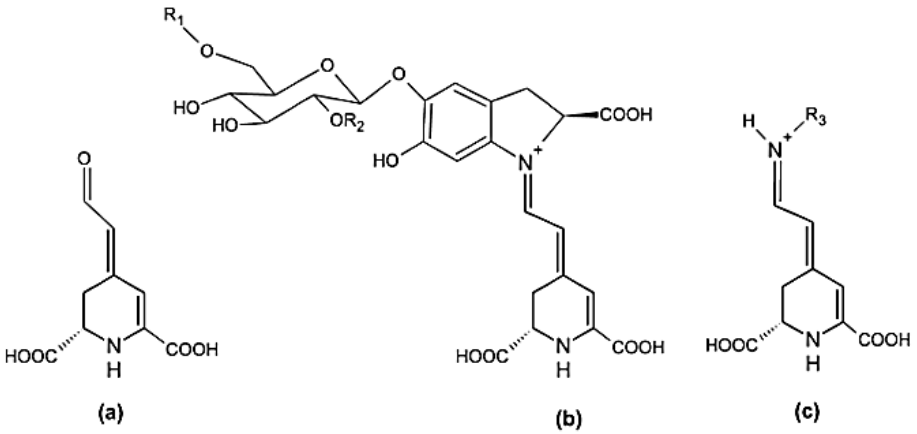
donde desempeñan diversas funciones de protección al ataque de patógenos o herbívoros y son pigmentos que atraen a los polinizadores. Poseen estructuras con anillos aromáticos y dobles enlaces conjugados a partir de los cuales ejercen su acción antioxidante. Pueden también aparecer en formas conjugadas (glicósidos) con uno o más restos de azúcares unidos a grupos hidroxilo o directamente al anillo aromático aunque también pueden encontrarse asociados a otros compuestos (Manach & Donovan, 2004).

Los fenoles son compuestos orgánicos aromáticos que contienen el grupo hidroxilo como su grupo funcional; los fenoles o compuestos fenólicos son compuestos orgánicos en cuyas estructuras moleculares contienen al menos un grupo fenol, un anillo aromático unido a lo menos a un grupo hidroxilo. Muchos son clasificados como metabolitos secundarios de las plantas, aquellos productos biosintetizados en las plantas que poseen la característica biológica de ser productos secundarios de su metabolismo. En general son sintetizados por una de dos vías biosintéticas: la ruta del ácido shikímico o la vía del ácido malónico (o por las dos, por ejemplo los flavonoides) (Huaringa, 2014).

2.2.9. Betalaínas

Químicamente las betalaínas son alcaloides derivados de la tirosina que pueden ser de dos tipos: En la figura N°02 las betacianinas son de color rojo-violáceo (b) y las betaxantinas (c) anaranjadas amarillentas, ambas con el núcleo fundamental del ácido betalámico (a) (Huaringa, 2014).

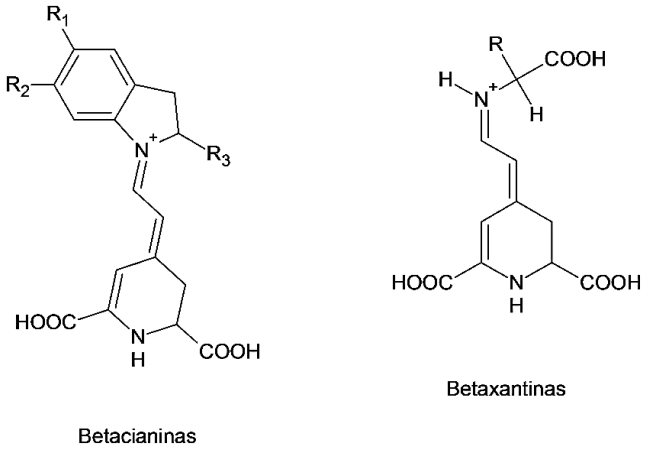
Figura N°2: Estructura de las betalaínas en alimentos.



El ácido betalámico (a) es el cromóforo común a todos los pigmentos betalaínicos; las betacianinas tienen un residuo ciclo-DOPA mientras que las betaxantinas tienen aminoácidos o aminas adicionadas en dicha posición. Las betacianinas son glicósidos mayormente de la betanidina. Por ejemplo, el pigmento de la remolacha es el betanidin- 5-O -β –glucósido (betanina) (Castellar, 2008). Los frutos que contienen betalaínas también poseen fenoles de diferentes tipos, excepto antocianinas, pues estas dos clases de pigmentos son mutuamente excluyentes. En algunas especies el

contenido de fenoles es mayor que el de betalaínas, y en otras es lo contrario. En varias especies del género Opuntia los valores de fenoles totales fueron mayores que los de betalaínas (Morales, 2007).

Figura N°3: Estructura de las betacianinas y betaxantinas.



Betacianinas

Betaxantinas

2.2.10. Estabilidad de las Betalaínas

Un requisito evidente de un colorante es su estabilidad a largo plazo, a diferentes condiciones de temperatura, pH, Aw y otros factores. Se analiza a continuación la respuesta de las betalaínas a distintas condiciones: pH, temperatura, oxidación, entre otros (Tesoriere, 2005).

- pH: Uno de los problemas mayores que tienen los colorantes naturales que se encontraron hasta el momento es su baja estabilidad. Por ejemplo, en el caso de las antocianinas se ha

demostrado que son muy lábiles en medio ácido, hidrolizándose rápidamente. En el caso de las betalaínas, no se hidrolizan en medio ácido, pero si sufren cambios de color tanto a un pH por debajo de 3.5 por lo cual se pueden utilizar para alimentos ácidos. Sin embargo su máxima estabilidad esta entre pH 5 y 6

- Luz: Las betalaínas se degradan en presencia de luz siempre y cuando también estén expuestas a oxígeno. En condiciones anaeróbicas su oxidación es insignificante.
- Oxígeno: Son relativamente oxidables, dando compuestos de color marrón. Esto se puede evitar o disminuir en presencia de antioxidantes tales como vitamina C.
- Metales: En general las betalaínas puras se hidrolizan más fácilmente en presencia de cationes metálicos. Estas reacciones disminuyen considerablemente cuando se encuentran en el jugo, debido seguramente a la capacidad complejante de otros componentes tales como los polifenoles que se encuentran naturalmente dentro del alimento.
- Temperatura: Indudablemente es el factor que más afecta la estabilidad de las betalaínas, acelerando las reacciones de hidrólisis que dan como productos el ácido betalámico incoloro y otros productos de color marrón.

- Antioxidantes: La presencia de antioxidantes estabiliza a las betalaínas, particularmente el ácido ascórbico.

2.2.11. Betacianina

Conjugados de ácido betalámico y ciclodopa, ambos derivados de la Tirosina. Parecen similares a los Indoles pero son biosintetizados en una vía diferente y contienen N^+. Sus miembros son colorantes de color rojo o violeta que se encuentran en el orden de plantas *Caryophyllales* y en algunos basidiomicetos (Morales, 2007).

. Las betacianinas dan colores rojizos a las flores *de Bougainvillea, Portulacaceáe* y *Cactáceas*. Sirven para atraer a los insectos polinizadores y también como protectores frente a la radiación (Henriette, 2008).

2.2.12. Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas. La oxidación es una reacción química de transferencia de electrones de una sustancia a un agente oxidante. Las reacciones de oxidación pueden producir radicales libres que comienzan reacciones en cadena que dañan las células (Vargas, 2015).

Se han empleado distintos métodos para evaluar la capacidad antioxidante. Sin embargo no existe un método único y los resultados

dependen del procedimiento utilizado para evaluarla (Leighton y Urquiaga, 1998).

Existe una gran cantidad de mecanismos de cómo los antioxidantes alimentarios pueden ejercer su acción, entre aquellos compuestos que reaccionan directamente con los radicales libres, como polifenoles, deteniendo el proceso en cadena de oxidación lipídica. Esta reacción se puede llevar a cabo por dos posibles vías: reacciones de transferencia de un átomo de H (Hidrogen Atom Transfer, HAT) o de transferencia de un electrón (Single Electron Transfer, SET) (Prior & Schaich, 2005). Estos aspectos que se deben tener en cuenta al seleccionar varios métodos de medida de capacidad antioxidante.

2.2.13. Tipos de extracción

A continuación describimos brevemente los métodos más comunes para extraer pigmentos de ayrampo:

a. Extracción directa

La extracción directa es aquella en que la materia prima se pone en contacto directo con el solvente. Los solventes utilizados pueden ser agua o alcohol y con cada uno de estos solventes se pueden tener diferentes formas de extracción:

- La primera forma de extracción consiste en una simple maceración, es decir, dejar la materia prima en remojo en el solvente por varias horas. De esta forma se puede ex-traer el colorante sin degradación, pero el rendimiento es bajo.
- Otra forma de extracción es calentando el solvente, esta extracción debe hacerse a menos de 100 °C para evitar una fuerte degradación del colorante. Cada una de las formas de extracción descritas anteriormente presenta una variante adicional ya que generalmente se les añade ácido para realizar la extracción a un pH entre 3 y 5 donde la degradación de las antocianinas es menor.

En extracciones a nivel de laboratorio se prefiere el uso de alcohol como solvente, pero a nivel industrial el agua es el solvente más indicado debido a su menor costo.

2.2.13.1. Extracción Soxhlet

Para este tipo de extracción se emplea un equipo llamado Soxklet, en el cual la materia prima no está en contacto directo con el solvente, sino que son los vapores de este los que entran en contacto con la materia prima permitiendo la extracción. Este método de extracción permite una mayor concentración de la solución pero el solvente que tendría que usarse sería el alcohol debido a su menor punto de ebullición y a que si usara agua estaría hirviendo a 100°C por

un periodo largo lo que traería como consecuencia la degradación de las antocianinas debido a su poca estabilidad a la temperatura.

2.2.14. Alimentos funcionales

Son aquellos alimentos que son elaborados no solo por sus características nutricionales sino también para cumplir una función específica como puede ser el mejorar la salud y reducir el riesgo de contraer enfermedades (Martínez, 2005).

2.2.15. Diseño factorial completo 2^k

Cuando el objetivo es medir cómo influyen k factores en un proceso y descubrir si interaccionan entre ellos, el diseño factorial completo 2^k es la estrategia experimental óptima. Este diseño permite explorar una zona escogida del dominio experimental y encontrar una dirección prometedora para la optimización posterior (García, 2000).

2.2.15.1. Construcción de un diseño factorial completo 2^k

Por su sencillez, una matriz de experimentos factorial completa 2^k no requiere un software especializado para construirla ni para analizar sus resultados. En estos diseños, cada factor se estudia a sólo dos niveles y sus experimentos contemplan todas las combinaciones de cada nivel de un factor con todos los niveles de los otros factores.

La Tabla N°1 muestra las matrices 2^2, 2^3 y 2^4, para el estudio de 2, 3 y 4 factores respectivamente. La matriz comprende 2^k filas (2 X 2..

$X^k = 2^k$ experimentos) y k columnas, que corresponden a los k factores en estudio. Si se construye en el orden estándar, cada columna empieza por el signo –, y se alternan los signos – y + con frecuencia 2^0 para X_1, 2^1 para X_2, 2^2 para X_3, y así sucesivamente hasta X_k, donde los signos se alternan con una frecuencia 2^{k-1} (García, 2000).

Tabla N° 1: Matriz de experimentos para los diseños factoriales completo 2^2, 2^3 y 2^4.

	x_1	x_2
1	–	–
2	+	–
3	–	+
4	+	+

	x_1	x_2	x_3
1	–	–	–
2	+	–	–
3	–	+	–
4	+	+	–
5	–	–	+
6	+	–	+
7	–	+	+
8	+	+	+

	x_1	x_2	x_3	x_4
1	–	–	–	–
2	+	–	–	–
3	–	+	–	–
4	+	+	–	–
5	–	–	+	–
6	+	–	+	–
7	–	+	+	–
8	+	+	+	–
9	–	–	–	+
10	+	–	–	+
11	–	+	–	+
12	+	+	–	+
13	–	–	+	+
14	+	–	+	+
15	–	+	+	+
16	+	+	+	+

Donde X_1, X_2, X_3 y X_4 pueden ser cualquier factor; en este caso se está tomando X_1=pH, X_2=% de Etanol, X_3=Temperatura y finalmente X_4=Tiempo; se puede visualizar los datos reales en el cuadro N°8.

2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS

2.3.1. Extracción

La extracción es la técnica empleada para separar un producto orgánico de una mezcla de reacción o para aislarlo de sus fuentes naturales. Puede definirse como la separación de un componente de una mezcla por medio de un disolvente (Kitts, 1994).

En la práctica es muy utilizada para separar compuestos orgánicos de las soluciones o suspensiones acuosas en las que se encuentran. El procedimiento consiste en agitarlas con un disolvente orgánico inmiscible con el agua y dejar separar ambas capas. Los distintos solutos presentes se distribuyen entre las fases acuosas y orgánicas, de acuerdo con sus solubilidades relativas (Kitts, 1994).

De este modo, las sales inorgánicas, prácticamente insolubles en los disolventes orgánicos más comunes, permanecerán en la fase acuosa, mientras que los compuestos orgánicos que no forman puentes de hidrógeno, insolubles en agua, se encontrarán en la orgánica (Kitts, 1994).

2.3.2. Solvente

Un solvente es la sustancia que forma parte en mayor cantidad de una solución. La solución es compuesta por la combinación y tratamiento de un soluto (en menor cantidad, por lo general solido o liquido pero con mayor concentración) y un solvente (liquido con

propiedades propicias para que ese soluto se disuelva correctamente) (Vollhard, 1994).

El soluto universal es el agua, por su neutralidad en el proceso y su fácil adaptación a la transformación de nuevas moléculas de otros elementos (Vollhard, 1994).

2.3.3. Parámetros

Un parámetro es un número o dato obtenido por un estudio realizado anteriormente, cuyos fines sirven para limitar los trabajos de investigación, pueden ser parámetros estadísticos, parámetros fisicoquímicos o de programación (Uma, 2010).

2.3.4. Tratamientos

Se conoce como tratamiento al conjunto de condiciones de calentamiento, enfriamiento, acidificación, humedad, tiempo, presión, entre otras. Cuyos parámetros son limitados y controlados con la finalidad de visualizar e identificar la influencia de estas condiciones (Tesoriere, 2005).

2.3.5. pH

Es una unidad de medida de alcalinidad o acidez de una solución, mide la cantidad de iones de hidrógeno que contiene una solución cuyas siglas significa Potencial de Hidrogeniones (Sarmiento, 2003).

2.3.6. Desviación estándar

La desviación estándar es la medida de dispersión más común, que indica qué tan dispersos están los datos con respecto a la media. Mientras mayor sea la desviación estándar, mayor será la dispersión de los datos (Jorge, 2016).

2.3.7. Radicales libres

Se denomina radicales libres a los electrones sin pareja o enlace débil. Estos radicales libres son muy inestables, por lo que reaccionan con facilidad para encontrar el electrón necesario para lograr su estabilidad (Zumbado, 2005).

2.3.8. Espectrofotómetro

El espectrofotómetro es un instrumento con el que se apoya la espectrofotometría para medir la cantidad de intensidad de luz absorbida después de pasar a través de una solución muestra (Zeng *et al*., 2017).

La estructura básica de los espectrofotómetros consiste en una fuente de luz, un colimador, un monocromador, un selector de longitud de onda, una cubeta para la solución muestra, un detector fotoeléctrico y una pantalla digital o un medidor (Zeng *et al*., 2017).

CAPITULO III
MARCO METODOLÓGICO

3.1. TIPO Y DISEÑO

En el presente trabajo de investigación se utilizó el diseño factorial completo 2^k, con un 95% de confiabilidad, con la finalidad de evaluar el efecto de los diversos tratamientos sobre las variables respuestas, los datos fueron analizados mediante el software estadístico Statgraphics Plus Professional XVI.

3.2. NIVEL DE INVESTIGACIÓN

Investigación aplicada, en el área de tecnología de alimentos.

3.3. LUGAR DE EJECUCIÓN

Se utilizó el laboratorio de procesos agroindustriales de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional de Moquegua para la extracción de los pigmentos de ayrampo como también los análisis de influencia de los parámetros fisicoquímicos.

El análisis fisicoquímico de las semillas de ayrampo se desarrolló en el área de laboratorio de ensayo y control de calidad de la facultad de ciencias farmacéuticas, bioquímicas y biotecnológicas de la Universidad Católica de Santa María - Arequipa.

3.4. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

La operacionalización de variables permite identificar los factores de estudio y variables respuesta; la Tabla N°2 detalla estos aspectos.

Tabla N° 2: Operacionalización de variables

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensión	Indicadores
Parámetros fisicoquímicos.	Los parámetros físicoquímicos, son condiciones que se aplicarán al extracto de pigmento de ayrampo.	Evaluar la influencia de estos parámetros en el extracto de ayrampo.	- Concentración de etanol 96° : agua.	0:100 y 80:20
			- Ph	3 y 5
			- Temperatura	40 y 80°C
			- Tiempo	10 y 30 min.

Fuente: Elaboración propia (2017).

3.4.1. Variable independiente

Tabla N° 3: Valores máximos y mínimos de los indicadores independientes.

Indicadores	Mínimo	Máximo
- Concentración de etanol 96° (v/v %)	0	80
- pH	3	5
- Temperatura	40°C	80°C
- Tiempo	10min	30min

Fuente: Elaboración propia (2017).

3.4.2. Variable dependiente

Tabla N° 4: Unidades de los indicadores dependientes

Indicadores	Unidades
- Fenoles totales	mg GAE
- Betacianinas totales	mg/g
- Capacidad antioxidante	µmol Trolox

Fuente: Elaboración propia (2017).

- Los resultados son expresados en g de ayrampo seco.

3.5. POBLACIÓN Y MUESTRA

3.5.1. La población y muestra

La materia prima se obtuvo del sector de Chuchusquea alta, ubicado a los 3 055 m.s.n.m, distrito de Torata, provincia Mariscal Nieto, región Moquegua.

3.6. TECNICAS E INSTRUMENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS

3.6.1. Materiales y métodos

3.6.1.1. Materia prima

Para el estudio se empleó semillas de ayrampo (*Opuntia soehrensii B.*) provenientes del mercado ubicada en Torata Alta, distrito Torata.

3.6.1.2. Materiales y equipos

a) Materiales

- 03 Matraces Erlenmeyer (50, 100 y 250 mL)
- 02 Micropipetas (50 y 100 µL)
- 02 Pipetas de vidrio (1 y 10 mL)
- 03 Probetas de vidrio (50, 100, 250 mL)
- 30 Tubos de ensayo
- 03 Vasos de precipitados de vidrio (50, 100, 250 mL)

b) Equipos

- Balanza analítica (RADWAG AS22OC2)
- Equipo de titulación potenciométrica pH (Modelo STAR A211)
- Espectrofotómetro UV-visible doble haz 4419 (Modelo HJD005)
- Estufa L-C oven (Marca Lab Line)
- Refrigeradora (Marca Bosch)
- Agitador magnético con temperatura (Modelo IKA C-MAG HS-7)

c) Insumos y Reactivos

- Ácido ascórbico
- Trolox: 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid
- ABTS: 2,2′-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid
- Folin-Ciocalteu (2N)
- Ácido clorogénico
- McIlvane buffer (0.15M, pH 5.6)

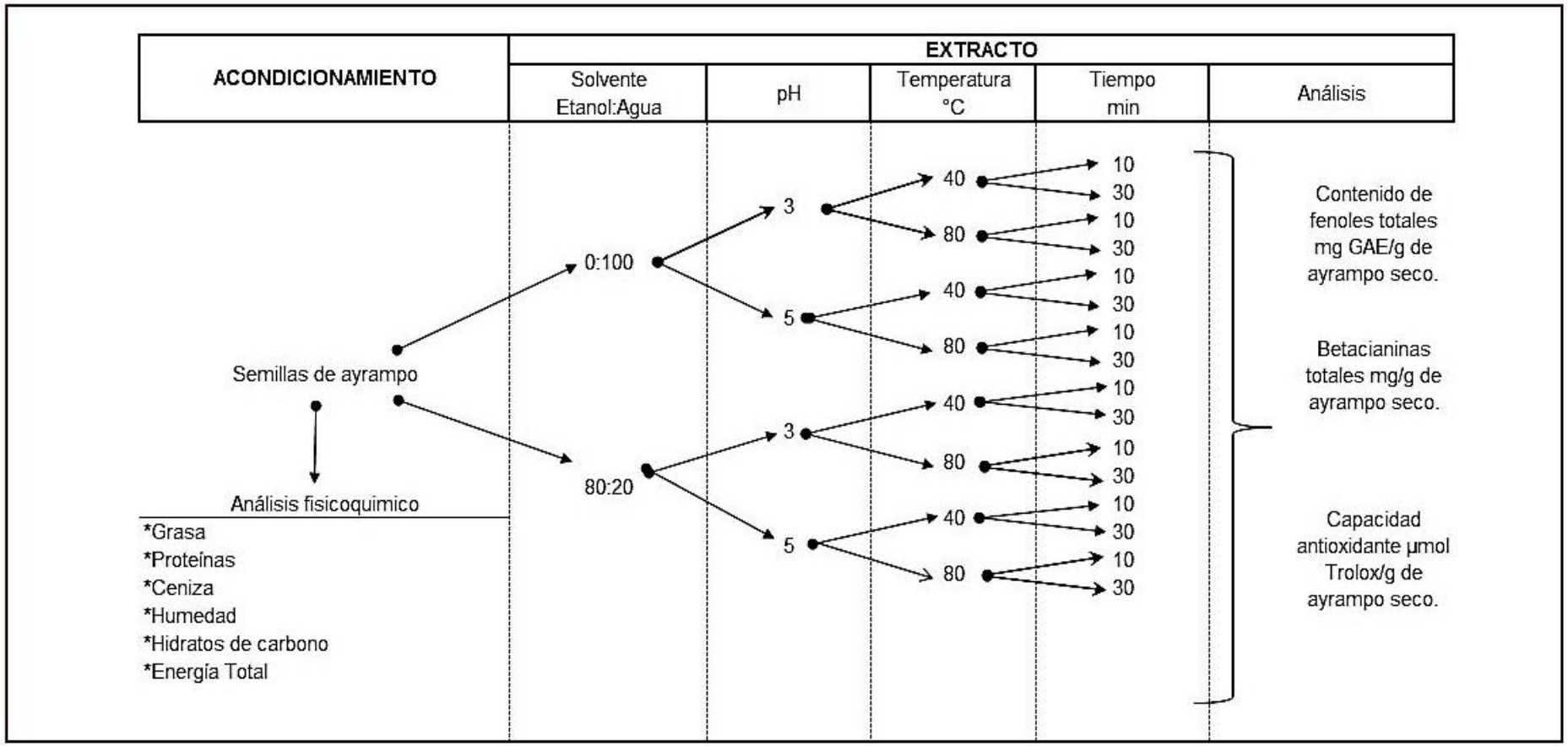
- Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) Sigma
- Ácido tiobarbitúrico (TBA)Sigma
- Dimetilsulfóxido (DMSO) Sigma
- Persulfato de Potasio.
- Etanol 96º y Metanol 30°
- KCl 0,15M

3.7. MÉTODOS Y TÉCNICAS PARA LA PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS

3.7.1. Metodología experimental

En la Figura N°4 se puede visualizar la metodología aplicada en el presente trabajo de investigación con respecto a los parámetros fisicoquímicos.

Figura N° 4: Metodología del trabajo de investigación



Fuente: Elaboración propia (2017).

A continuación detallamos cada una de las operaciones mencionadas en la Figura N°4.

3.7.1.1. Acondicionamiento

Las muestras recolectadas fueron sumergidas en una solución de hipoclorito a 5ppm, y después se procedió a retirar las cáscaras para obtener el fruto del ayrampo (semillas) según el método Sánchez *et al* (2013). Estas muestras fueron llevadas a secado a 40°C por 24 horas, las muestras fueron envasadas en bolsas de polietileno y protegidas de la luz a temperatura ambiente.

3.7.1.2. Extracción de los pigmentos

Se evaluó el efecto del nivel de concentración del solvente según el método descrito por Castellar (2003); con algunas modificaciones, se usaron diferentes concentraciones de etanol (0-80%, v/v), diferentes niveles de pH (3 – 5), Temperatura (40 – 80 °C) y tiempo (10 – 30 min).

- 2g de muestra de ayrampo, fueron llevados a 20mL de la solución (etanol 96°: agua), el pH de la solución fue ajustado de 3 ó 5 con una solución al 1% de ácido cítrico; con la finalidad de evitar la descomposición del pigmento y se evaluó el efecto

de este factor en la extracción del pigmento. La mezcla fue homogenizada en un agitador Vortex a 750 rpm a una temperatura y tiempo dado.

- Dichos análisis se llevaron a cabo según las condiciones que correspondieron a cada muestra (Ver Tabla N° 5).

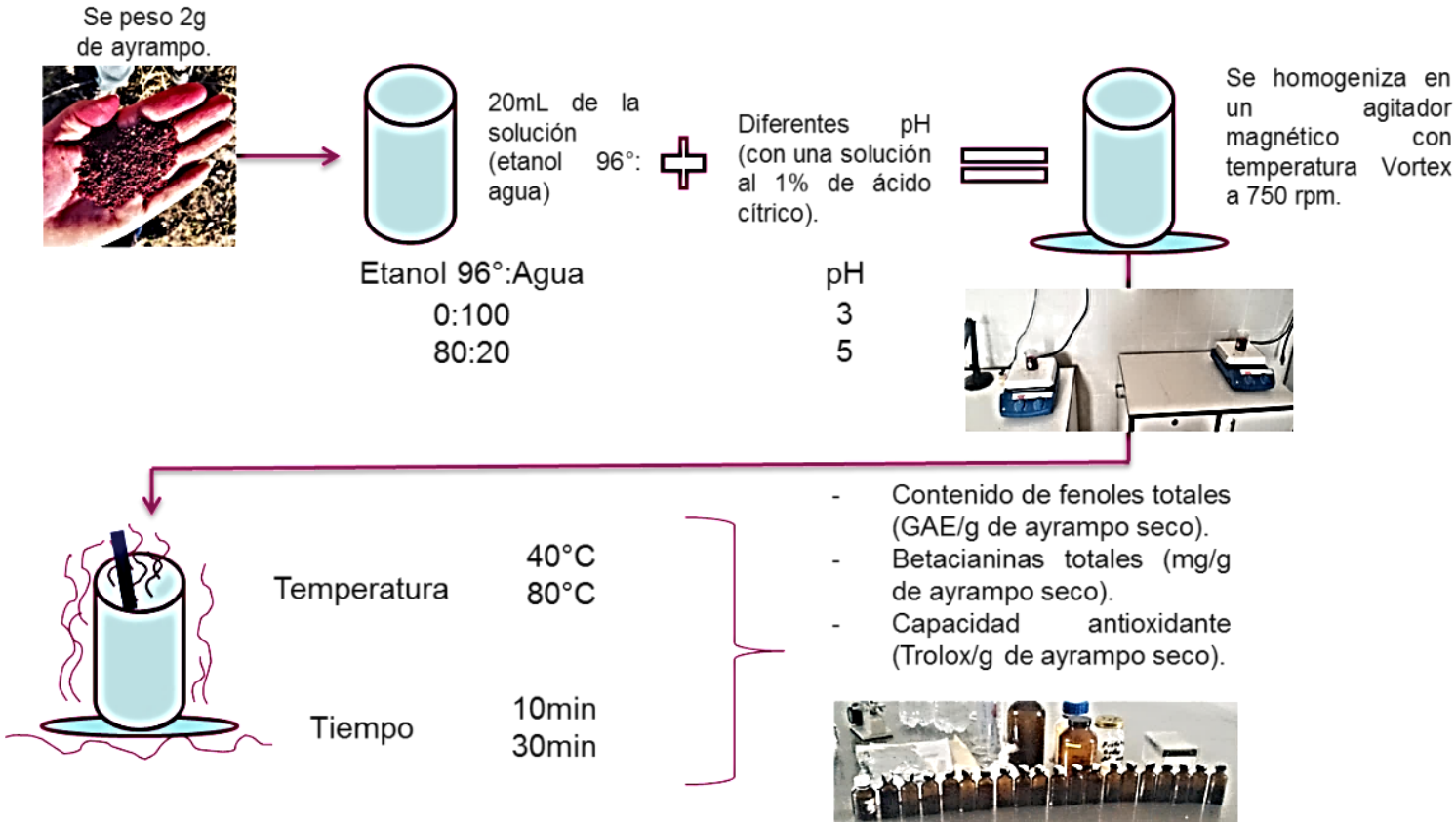
Tabla N° 5: Condiciones de las muestras a analizar para la extracción de los pigmentos.

N°	pH	% etanol	Temperatura	Tiempo
1	3	0	40	10
2	5	0	40	10
3	3	80	40	10
4	5	80	40	10
5	3	0	80	10
6	5	0	80	10
7	3	80	80	10
8	5	80	80	10
9	3	0	40	30
10	5	0	40	30
11	3	80	40	30
12	5	80	40	30
13	3	0	80	30
14	5	0	80	30
15	3	80	80	30
16	5	80	80	30
17	4	40	60	20
18	4	40	60	20
19	4	40	60	20
20	4	40	60	20

Fuente: Elaboración propia (2017).

A continuación en el Gráfico N°1, se puede visualizar el proceso de acondicionamiento y extracción que se sometieron las semillas de ayrampo.

Gráfico N° 1: Proceso de acondicionamiento y extracción de los pigmentos de ayrampo.



Fuente: Elaboración propia (2017).

3.7.1.3. Estudio de estabilidad del pigmento

El efecto de la estabilidad del pigmento fue evaluado mediante espectro de absorbancia, mediante un espectrofotómetro UV-visible, los análisis realizados fueron los siguientes:

a) Fenoles totales

El contenido total de compuestos fenólicos fue determinado con Folin-Ciocalteu, según el método descrito por Rossi (1965), usando la curva estándar de ácido gálico. La absorbancia fue medida a 725 nm y los resultados fueron expresados como mg de ácido gálico equivalente (GAE)/g.

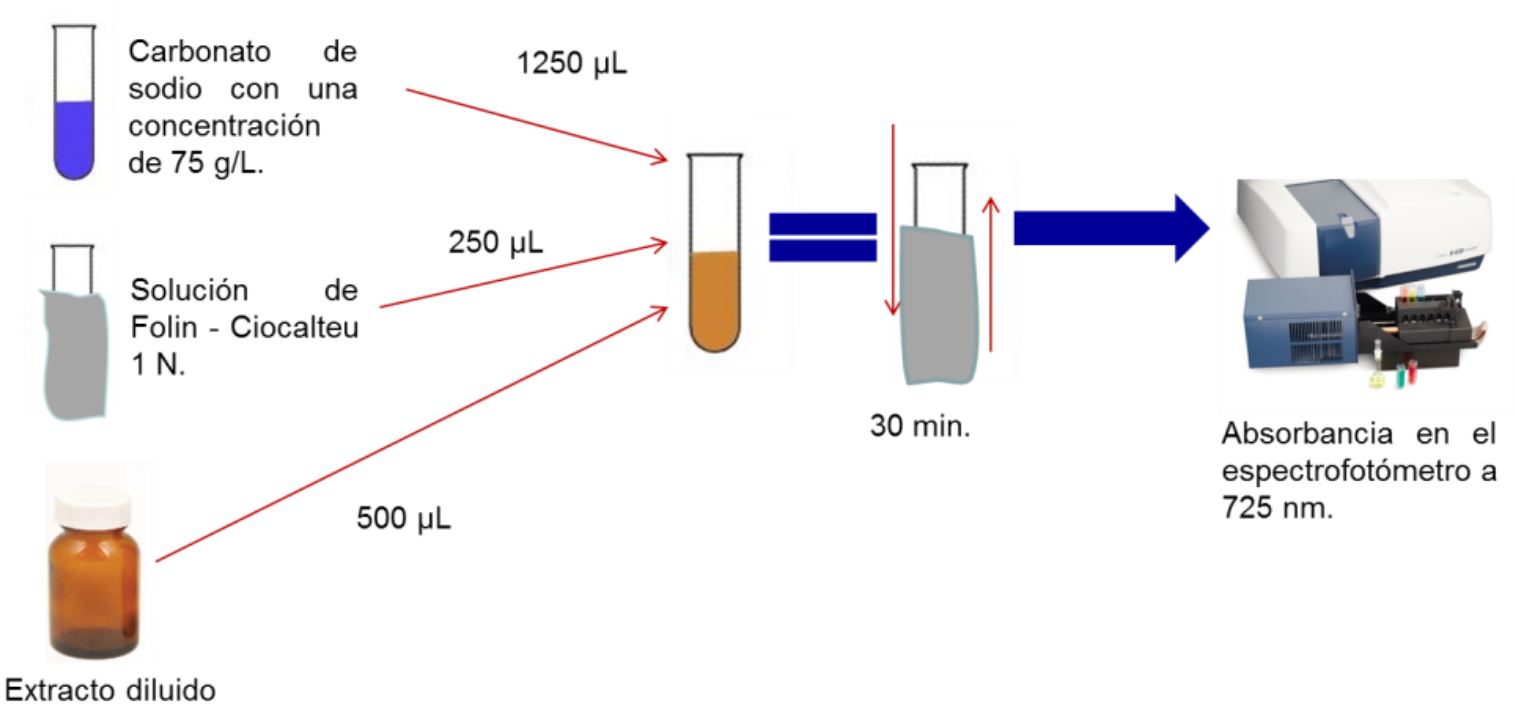
- Se preparó una solución de carbonato de sodio con una concentración de 75 g/L.
- Continuamente se preparó una solución de Folin - Ciocalteu 1 N.
- Finalmente se tomó 500 µL de extracto diluido en un tubo protegido de la luz y adicionando primero 250 µL de Folin - Ciocalteu, y segundo 1250 µL de solución carbonato de sodio. Paralelamente se preparó un blanco con 500 µL de metanol 30° en lugar de la muestra, con el cual se calibró el espectrofotómetro.
- Se agitó y dejó reaccionar por 30 minutos protegido de la oscuridad, luego se midió su absorbancia en espectrofotómetro a 725 nm. Las lecturas no deben ser menores a 0.1 ni mayores a

0.7. Si el resultado es mayor que 0.7, se realiza una dilución (muestra: agua destilada) 1:5.

- Para esté análisis se realizó una disolución.
- El contenido de compuesto fenólicos se calculó usando una curva estándar de ácido gálico (Anexo N°2).

A continuación en el Gráfico N°2, se puede visualizar el proceso realizado para el análisis de Fenoles Totales.

Gráfico N° 2: Proceso del Análisis de Fenoles Totales.



Fuente: Elaboración propia (2017).

b) Betacianinas totales

Las betacianinas fueron calculadas según el método reportado por Cai y Corke (2000), donde el extracto fué diluido a un volumen conocido con McIlvane buffer (0.15M, pH 5.6) y la absorbancia medida debe estar entre los rangos de 0.2 y 0.8 a 537 nm. Si el resultado es mayo que 0.8, se realiza una dilución para ajustar la absorbancia.

- Para esté análisis se realizará dos disoluciones.
- Se añadió 1mL de muestra con 1mL de extracto Mcllvane buffer, en un tubo de ensayo y se prosigue con la lectura.
- Se utilizó 1mL de etanol 96° con 1mL de extracto Mcllvane buffer, como blanco del análisis.

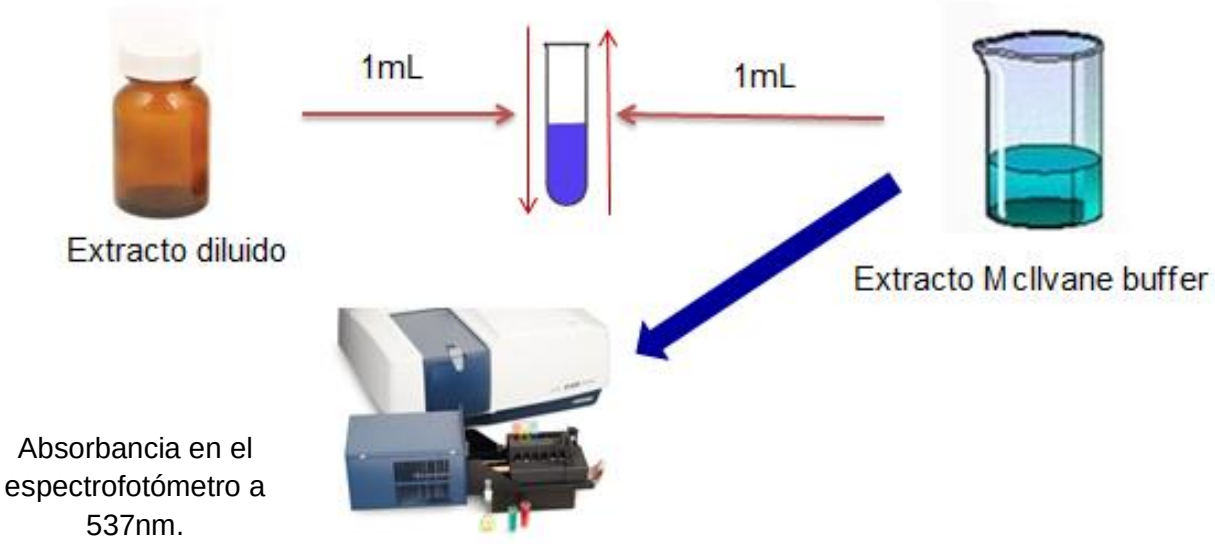
El % de betacianinas fué calculado por la siguiente ecuación

$$\%BC = (A \times V)/(E^{1\%} \times L \times M)$$

Donde A es la absorbancia a 537nm, V es el volumen de prueba de la solución (mL), L es el ancho de la cubeta de vidrio (1cm), W es el peso de la muestra (g) y E es el coeficiente de absorción molar para betanina (1120).

A continuación en el Gráfico N°3, se puede visualizar el proceso de análisis de las Betacianinas Totales.

Gráfico N° 3: Proceso del Análisis de Betacianinas Totales.



Fuente: Elaboración propia (2017).

c) Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante se determinó mediante el método de ABTS adaptado por Arnao *et al.* (2001) con algunas modificaciones. Este método tiene el mismo principio que el DPPH, con la única diferencia que en éste caso, se mide la captación del radical a través de la disminución de la absorbancia, se mide a 734 nm y, de igual forma, correlacionada en una curva estándar de Trolox. Los resultados fueron expresados como µM TE/g de muestra en base seca. El procedimiento es el siguiente:

A continuación se describe la preparación de la solución madre de ABTS:

- Reactivo A: Se pesó 78.4 mg de ABTS y se llevó a 10 mL con agua destilada.
- Reactivo B: Se pesó 13.2 mg de persulfato de potasio y se llevó a 10 mL con agua destilada. Ambas soluciones se protegió de la luz.

  Se mezclaron volúmenes iguales de los reactivos A y B, y se dejó reposar en oscuridad por 12 horas.

La solución de ABTS obtenida, se dividió en una proporción aproximada de 1:60 (sol. Madre : metanol 30°) utilizando metanol, hasta que estuvo a una absorbancia de 1.1 ± 0.02 a 734 nm.

Esta solución diluida sólo fué utilizada durante las 4 horas siguientes de su preparación.

- Se tomó 150 µL del extracto diluido y se le adicionó 2850 µL de solución de trabajo de ABTS. Al mismo tiempo se preparó un blanco con 150 µL de metanol 30° en lugar de la muestra. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente y en oscuridad. Luego, se leyó en el espectrofotómetro a 734 nm después de 165 minutos. Dichas lecturas no deben ser menores de 0.2 ni mayores a la absorbancia del blanco, en caso contrario se deben realizar la dilución correspondiente del extracto.
- La capacidad antioxidante se calculó usando una curva estándar de Trolox, y los resultados fueron expresados como µmol de Trolox equivalente/g de muestra en base seca.

La ecuación empleada, fue obtenida a partir de la curva estándar de Trolox a 734 nm con r^2= 0.9942, y que se muestra a continuación, cuya grafica se encuentra en Anexos N°3.

$$Y= 1.1504x-0.0141$$

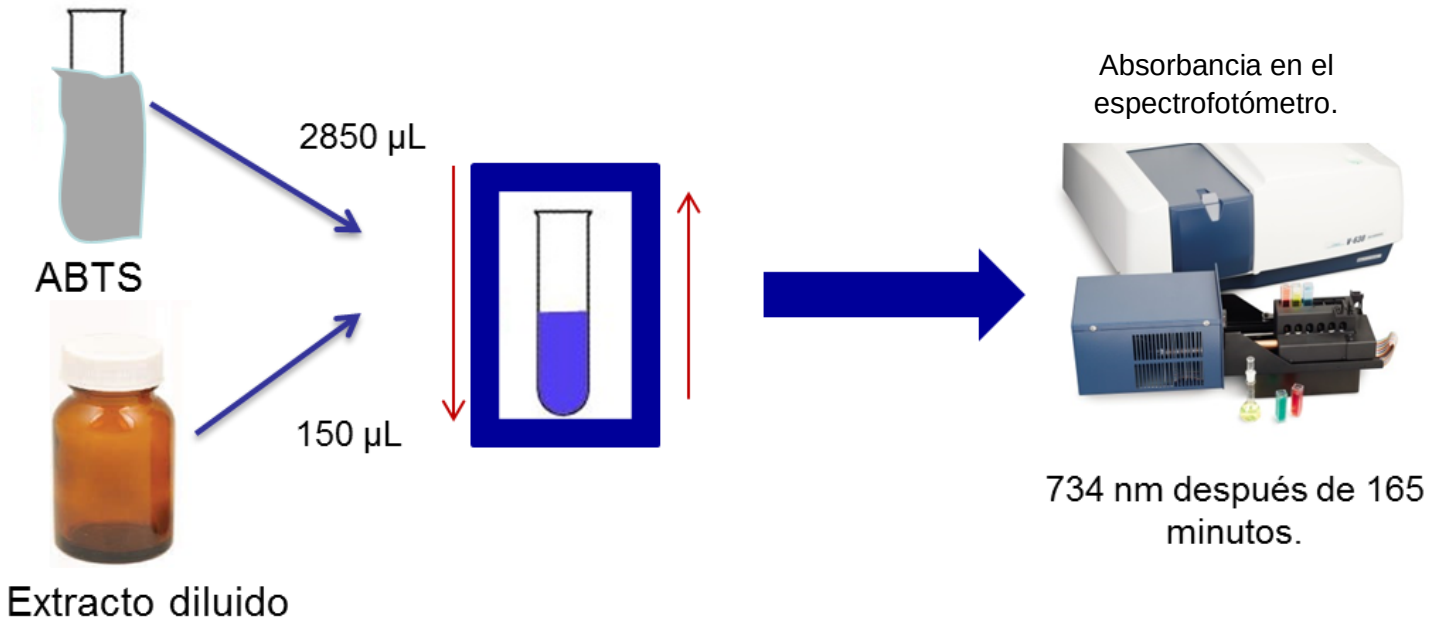
Dónde:

Y= Absorbancia

X= µmol de trolox equivalente/ mL

A continuación en el Gráfico N°4, se puede visualizar el proceso de análisis de Capacidad antioxidante.

Gráfico N° 4: Proceso del Análisis de Capacidad antioxidante.



Fuente: Elaboración propia (2017).

3.7.2. Análisis datos

La identificación de variables independientes y dependientes permitió establecer parámetros o niveles superiores o inferiores que se codificaron con +1 y -1 respectivamente, tal como se detalla en la Tabla N°6.

Tabla N° 6: Factores experimentales

Variables	Niveles		Variable respuesta
	-1	+1	
pH	3	5	- Fenoles totales (mg GAE) - Betacianinas totales (mg/g). - Capacidad antioxidante (µmol/Trolox)
% del Solvente	0	80	
Temperatura (°C)	40	80	
Tiempo (min)	10	30	

Los resultados son expresados en g de ayrampo seco.
Fuente: Elaboración propia (2017).

Identificado los niveles +1 y -1, procedemos a generar las interacciones entre los niveles de los tratamientos que nos permiten obtener las corridas experimentales, las cuales se presentan en la Tabla N° 7 y 8.

El diseño experimental utilizado en el presente trabajo de investigación fue el diseño factorial 2^k, con un 95% de confiabilidad, con la finalidad de evaluar el efecto de los diversos tratamientos sobre

las variables respuestas, utilizando un software estadístico Statgraphics Plus Professional XVI.

Tabla N° 7: Diseño estadístico 2^k, con niveles codificados.

N°	pH	% etanol	Temperatura	Tiempo
1	-	-	-	-
2	+	-	-	-
3	-	+	-	-
4	+	+	-	-
5	-	-	+	-
6	+	-	+	-
7	-	+	+	-
8	+	+	+	-
9	-	-	-	+
10	+	-	-	+
11	-	+	-	+
12	+	+	-	+
13	-	-	+	+
14	+	-	+	+
15	-	+	+	+
16	+	+	+	+
17	0	0	0	0
18	0	0	0	0
19	0	0	0	0
20	0	0	0	0

Fuente: Pagura (2015).

La Tabla N°7 muestra los niveles – y +, que representan los parámetros superiores e inferiores de cada indicador; cuyos datos cuantitativos se encuentran en la tabla N°8.

Tabla N° 8: Diseño estadístico 2^k, con parámetros reales.

N°	pH	% etanol	Temperatura	Tiempo
1	3	0	40	10
2	5	0	40	10
3	3	80	40	10
4	5	80	40	10
5	3	0	80	10
6	5	0	80	10
7	3	80	80	10
8	5	80	80	10
9	3	0	40	30
10	5	0	40	30
11	3	80	40	30
12	5	80	40	30
13	3	0	80	30
14	5	0	80	30
15	3	80	80	30
16	5	80	80	30
17	4	40	60	20
18	4	40	60	20
19	4	40	60	20
20	4	40	60	20

Fuente: Elaboración propia (2017).

En la Tabla N°8 podemos visualizar los niveles máximos y mínimos de cada variable.

CAPITULO IV
PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

4.1. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1.1. Resultado del análisis proximal de ayrampo

Las semillas de *Opuntia Soehrensii B*. fueron sometidas a un análisis proximal cuyos resultados se muestran a continuación:

Tabla N° 9: Resultados de los análisis físico-químicos del ayrampo.

ANÁLISIS	%
Grasa	1.50
Proteínas	5,65
Ceniza	2,86
Humedad	4,20
Hidratos de Carbono	85,79.
Energía total (kcal)	379,26

Fuente: Universidad Nacional Santa María – Arequipa (2017).

Los análisis fisicoquímicos fueron determinados por los métodos que se muestran en el Anexo N°4. El contenido de humedad en las

semillas de ayrampo (4,20%) es mayor a los señalados por Prieto *et al*., (2006) y Moreno *et al*., (2008); con respecto al contenido de proteínas el valor obtenido fue de 5,65%, superior al indicado por Prieto *et al*., (2006) de 0,97%, Habibi *et al*., (2008), de 1,5% y García *et al*., (2009) para las semillas de *Opuntia elatior* cuyo valor es de 2,89%. Mientras que se asemejan al obtenido por Moreno *et al*., (2008) en las semillas de *Opuntia elatior* con 5,24%.

Por su parte el porcentaje de cenizas coincide como los valores obtenidos por Prieto *et al*., (2006), cuyo resultado fue de 2,86%, e inferior a lo indicado de 2,5% por Habibi (2008). En cuanto a las diferencias con otras variedades el valor fue menor de 2,53% mencionado por García *et al*., (2009) para las semillas de la *Opuntia boldinghii* y a lo informado de 2,16% en las *Opuntia elatior* (Moreno *et al*., 2008).

4.1.2. Impacto de las condiciones sobre el contenido de Fenoles totales.

El ayrampo, es un fruto que pertenece al género *Opuntia*, conocido como "peras espinosas", es una fruta nativa de la región andina en Perú que ha sido utilizada por las comunidades andinas durante siglos como Colorante rojo-violeta para alimentos y textiles (Lira, 1985). Estudios previos han demostrado la presencia de compuestos con alta capacidad antioxidante en el fruto del ayrampo

tales como polifenoles y betacianinas (Campos *et al*., 2005). La Tabla N°10, muestra los resultados del contenido de fenoles en extractos de ayrampo sometidos a diversas condiciones de extracción.

Tabla N° 10: Resultados del efecto de las condiciones de operación sobre el contenido de fenoles

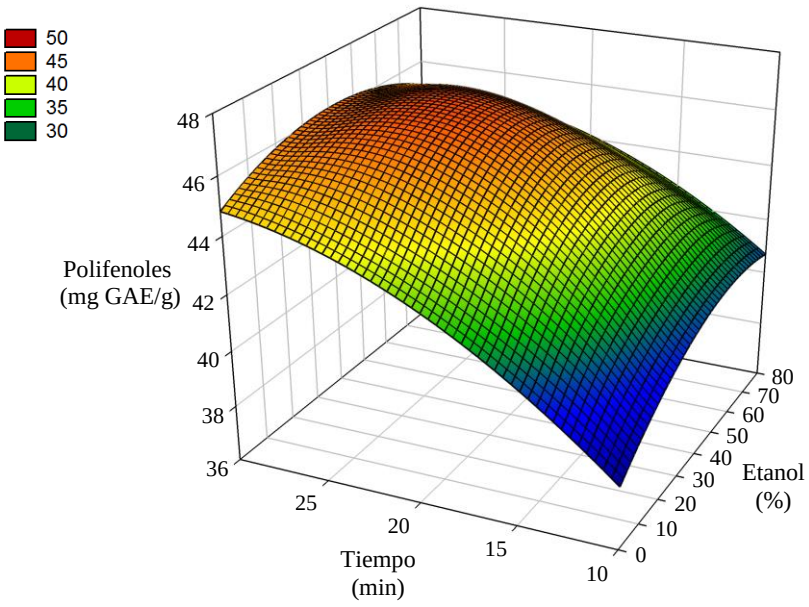
pH	Etanol (%)	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Fenoles totales (mg GAE/g)
3	0	40	10	48.66
5	0	40	10	30.62
3	80	40	10	49.49
5	80	40	10	38.41
3	0	80	10	45.79
5	0	80	10	27.79
3	80	80	10	41.03
5	80	80	10	33.83
3	0	40	30	61.46
5	0	40	30	32.85
3	80	40	30	54.4
5	80	40	30	37.48
3	0	80	30	51.06
5	0	80	30	33.94
3	80	80	30	52.89
5	80	80	30	35.78
4	40	60	20	47.37
4	40	60	20	45.09
4	40	60	20	45.93
4	40	60	20	46.61

Fuente: Elaboración propia (2017).

Los resultados son el promedio de 3 repeticiones y están expresados como gramos de ayrampo seco; GAE: equivalente de ácido gálico.

El contenido más alto de fenoles fue de 61.46 mg GAE/g de ayrampo seco (Tabla N°10), este valor es superior a los valores encontrados por otros estudios que utilizaron agua como solvente único de extracción con valores promedio de 10.3 a 20.14 mg GAE/g (Jorge & Troncoso, 2016) (Caldas-Cueva *et al*., 2016).

Figura N° 5: Contenido de fenoles en función de tiempo y % etanol



Fuente: Elaboración propia (2017).

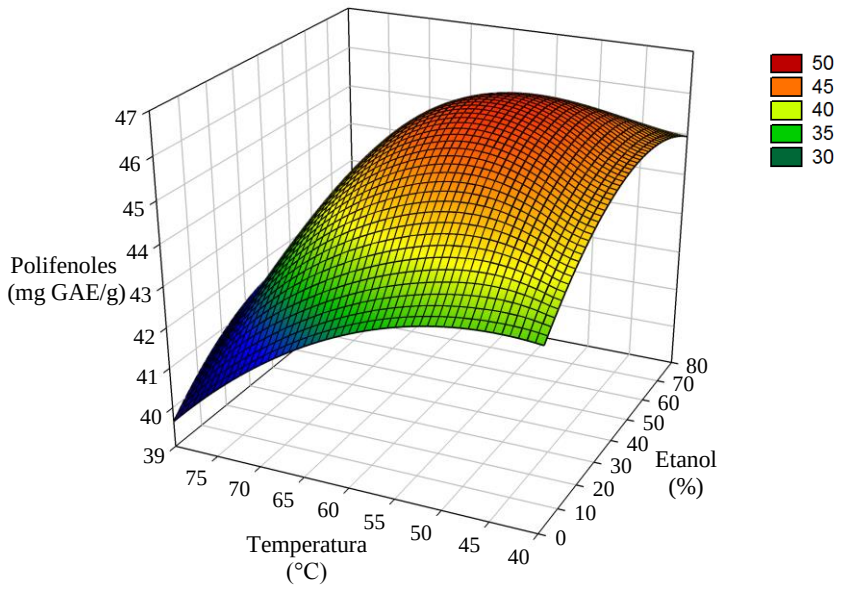
Por ello, el objetivo del presente trabajo de investigación fue evaluar la influencia de los parámetros fisicoquímicos en la extracción de pigmentos de ayrampo, sometidos a proceso de extracción

convencional con soluciones etanolicas controlando factores de pH, tiempo y temperatura, nuestros resultados indican que las altas concentraciones de etanol (>60%) reducen significativamente el contenido de fenoles de 61.46 a 27.79 mg GAE/ g (Figura N°5).

Al respecto, los disolventes polares se utilizan para recuperar y/o extraer polifenoles de matrices de plantas vegetales, los más adecuados son los disolventes de mezclas acuosas que contienen etanol, metanol, acetona y acetato de etilo. Donde el etanol es conocido como un buen disolvente para la extracción de polifenoles y es seguro para el consumo humano, mientras que el metanol ha demostrado ser más eficiente en la extracción de polifenoles de bajo peso molecular, por otro lado, la acetona acuosa es buena para extracción de flavanoles de mayor peso molecular (Do *et al*., 2014). No obstante se demostró que la acetona (~60%) es el solvente más efectivo para la extracción de estos compuestos no polares gracias a su constante dieléctrica la cual es 20 veces menor a la del agua y 10 veces menor a la del etanol (Uma, Ho, *&* Wan Aida, 2010). Sin embargo, la acetona es un producto toxico no recomendable para el uso en alimentos. En ese sentido, el uso de etanol como disolvente es una alternativa económicamente atractiva, sin embargo concentraciones superiores al 60% promueven que no exista grupos polares que son aportados en su mayoría por el agua que favorece la

extracción de fenoles de bajo peso molecular (Do *et al*., 2014), Esto puede ser causado por la combinación de etanol y agua que facilita la extracción de todos los compuestos que eran solubles tanto en agua como en disolventes orgánicos. La concentración de fenoles totales en el ayrampo fue superior a otras frutas como la papaya(53,8 mg de equivalente ácido gálico en 100 g de fruta fresca), la piña, la guayaba y guanábana presentan 8,9; 56,9 y 39,6 mg equivalentes de ácido gálico en 100g de fruta fresca, respectivamente(Alba *et al*., 2014).

Figura N° 6: Contenido de fenoles en función de temperatura (°C) y % etanol

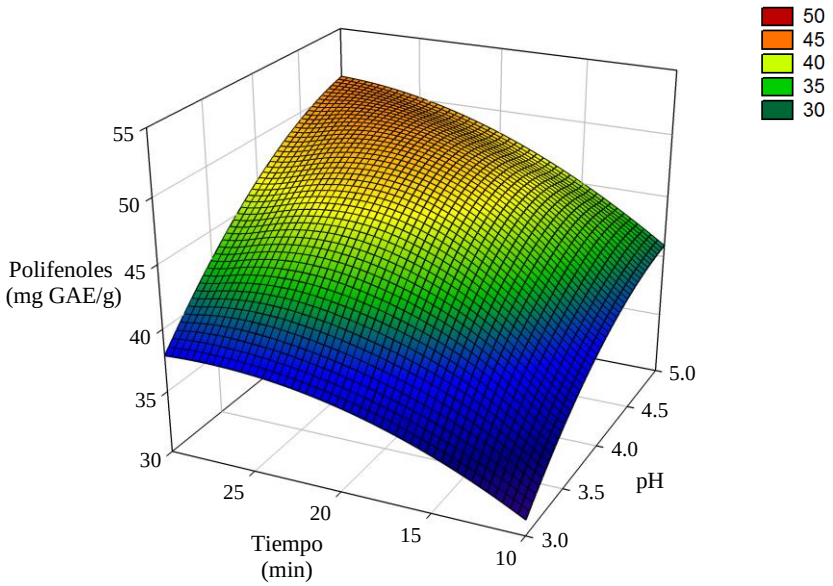


Fuente: Elaboración propia (2017).

La Figura N°5 y 6, muestran que concentraciones por encima del 50% de etanol promueven una disminución significativa en el contenido de fenoles como también las altas temperaturas (> 40°C); ya que los compuestos fenólicos son compuestos inestables y su degradación se dio a temperaturas elevadas, esto repercute sobre las propiedades antioxidantes de este compuesto debido a la oxidación del polifenol.

Al respecto diversos estudios señalan que temperaturas por encima de 50°C producen una degradación térmica en los polifenoles, adicionalmente es posiblemente en un primer inicio la degradación se deba a la activación de la polifenol oxidasa que cataliza este proceso en un rango de temperaturas de 50 – 60°C (Akowuah & Zhari, 2010) (Larrauri, *et al*., 1997) (Akowuah *et al*., 2009).

Figura N° 7: Contenido de fenoles con respecto al tiempo (min) y pH.

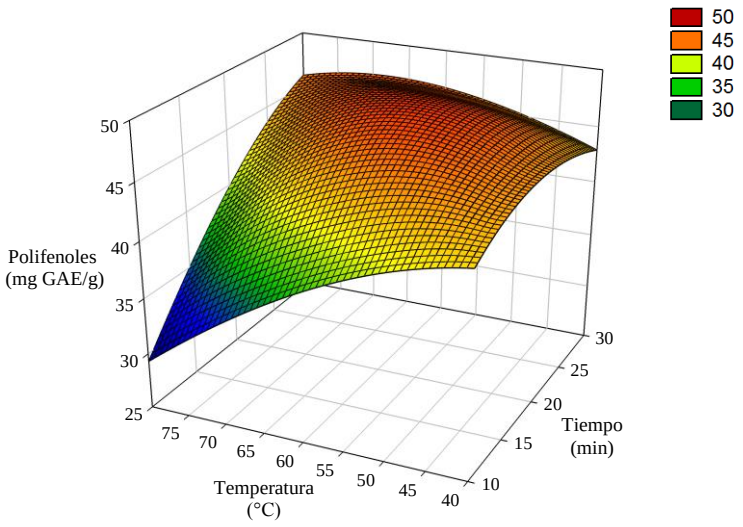


Fuente: Elaboración propia (2017).

El efecto del pH sobre el contenido de fenoles es inversamente proporcional al contenido de polifenoles (Figura N°7). Al respecto diversos estudios encontraron que los pH < 4.5, favorecen la extracción y estabilidad de los fenoles (Nicoli, Anese, & Parpinel, 1999) (Reshmi, Aravindhan, & Devi, 2012) (Caldas-Cueva *et al*., 2016). Estos estudios demostraron una fuerte relación entre la estructura química del polifenol y el pH, este efecto probablemente se deba a que los grupos oxidrilos ubicados en el anillo bencénico del polifenol, y la alta

concentración de grupos OH en la solución etanolica (pH < 4.5), esto hace que no se presente el fenómeno de desionizacion que desestabiliza y oxida al polifenol. Por tanto, los pHs ácidos favorecen la estabilidad del compuesto (Friedman *&* Jürgens, 2000).

Figura N° 8: Contenido de fenoles en función de la temperatura (°C) y tiempo (min).



Fuente: Elaboración propia (2017).

Según las Figuras N°7 y N°8, muestran que el ayrampo es una muy buena fuente de fenoles totales, los que están directamente relacionados con las propiedades organolépticas del alimento, como sabor, aroma, astringencia y color (Yahía *&* Mondragón, 2011). Los compuestos polifenólicos constituyen un grupo importante de antioxidantes naturales capaces de neutralizar radicales libres,

recomendándose su consumo para la prevención de enfermedades crónicas (Tesoriere *et al*., 2004).

La estimación de los efectos se realizó por el método de YATES (Anexo N° 4) y la significancia se pudo obtener a partir de la varianza de las réplicas, el nivel de confiabilidad es de un 95 %, cuyo análisis referimos a continuación:

- El efecto del factor temperatura (T°), es estadísticamente significativo con un 95% de confiabilidad ($S_{Estimado}$= 1.237 > S_{Yates}= 0.97), cuando el factor T° pasa de un nivel - a +, en promedio en toda la región experimental.
- El efecto del factor pH (H), es estadísticamente significativo con un 95% de confiabilidad ($S_{Estimado}$= 44.982 > S_{Yates}= 0.97) y favorece la recuperación de polifenoles cuando el factor H pasa de un nivel - a +, en promedio en toda la región experimental.
- El efecto del factor solvente (E) y tiempo (θ) es estadísticamente no significativo ($S_{Estimado\ solvente}$= -6.791 < S_{Yates}= 0.97 y $S_{Estimado\ tiempo}$= -2.3344 < S_{Yates}= 0.97) ya que disminuye la recuperación de fenoles cuando el factor E y θ pasan de un nivel + a - , en promedio en toda la región experimental.

4.1.3. Impacto de las condiciones de operación sobre el contenido de betacianinas.

Una serie de diversos colorantes son usados en el rango de colores rojo – violeta entre naturales y sintéticos. No obstante en los últimos años el uso de colorantes sintéticos están siendo cuestionado por la comunidad científica debido a sus posibles efectos toxicológicos en el ser humano, frente a esta situación los pigmentos naturales surgen como una alternativa para las diferentes las aplicaciones de la industria alimentaria, Las Betalainas comprenden más de 55 estructuras químicas que incluyen las betacianinas (color rojo-violeta) y betaxantinas (color amarillo – naranja) (Stintzing & Carle, 2007).

Para la tecnología de alimentos, maximizar el rendimiento del pigmento durante la extracción es un requisito previo antes de su aplicación y/o uso tecnológico, Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de las condiciones de extracción sobre el contenido final de betacianinas en extracto de ayrampo, los resultados se presentan en la Tabla N°11.

Tabla N° 11: Resultados del efecto de las condiciones de operación sobre el contenido de Betacianinas.

pH	Etanol (%)	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Betacianinas (mg / g)
3	0	40	10	3.13
5	0	40	10	4.93
3	80	40	10	1.64
5	80	40	10	3.84
3	0	80	10	2.12
5	0	80	10	2.37
3	80	80	10	1.51
5	80	80	10	1.71
3	0	40	30	3.67
5	0	40	30	5.81
3	80	40	30	1.48
5	80	40	30	4.36
3	0	80	30	1.78
5	0	80	30	4.37
3	80	80	30	1.4
5	80	80	30	1.46
4	40	60	20	6.13
4	40	60	20	6.62
4	40	60	20	6.81
4	40	60	20	6.94

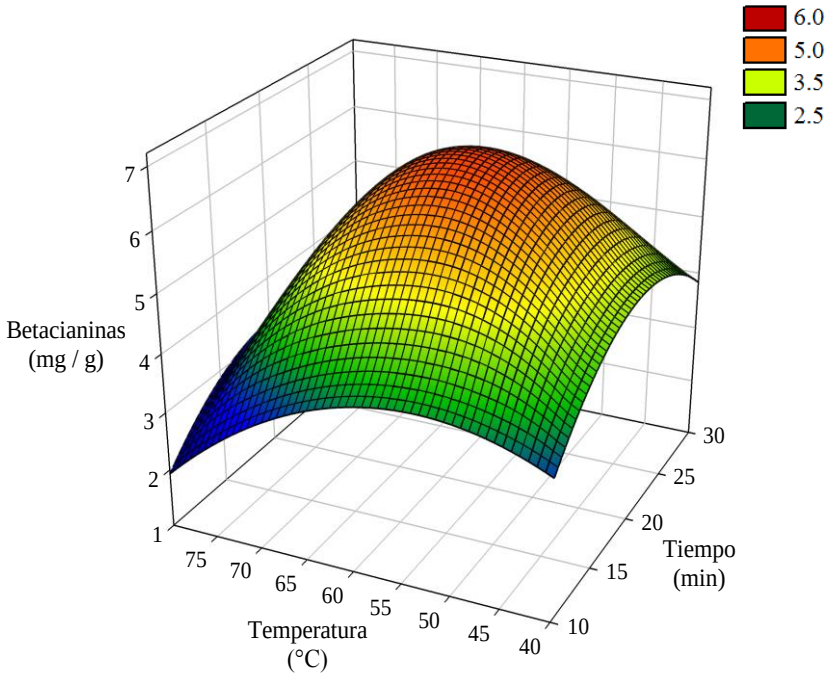
Fuente: Elaboración propia (2017).

Los resultados son el promedio de 3 repeticiones y están expresados como porcentaje (gramos de ayrampo seco).

El contenido de betacianinas en los extractos de ayrampo varia de 2.55 a 11 mg/ g (Tabla N°11). Estos resultados son superiores a los

encontrados por otros autores (Caldas-Cueva *et al*., 2016; Jorge *&* Troncoso, 2016). Cabe resaltar que estos autores extrajeron betacianinas de ayrampo utilizando como solvente agua y temperatura ambiente como condiciones de extracción.

Figura N° 9: Contenido de betacianinas en función de la temperatura y tiempo (min)

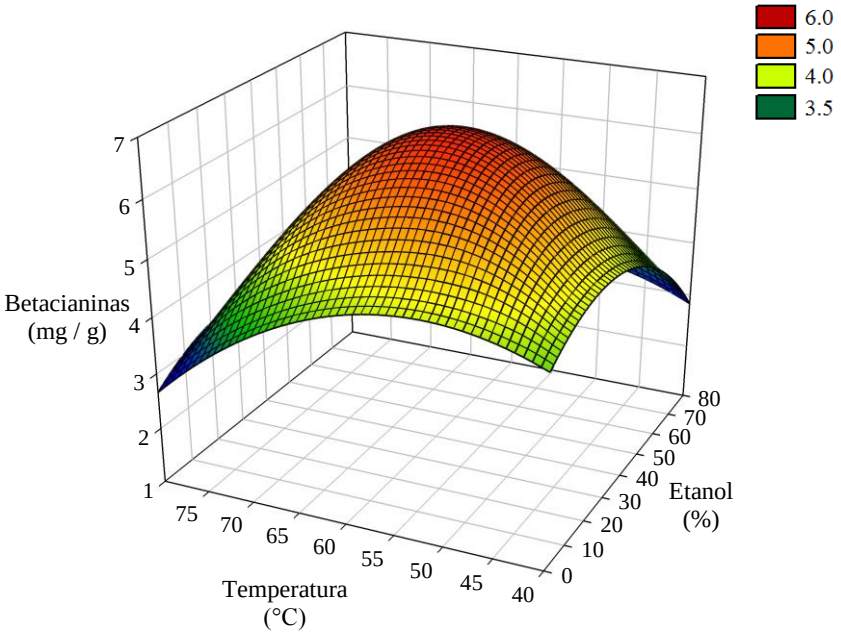


Fuente: Elaboración propia (2017).

El efecto de la temperatura sobre el contenido de betacianinas se muestra en la Figura N°9, se puede observar que a temperaturas entre 50 y 60°C favorecen la extracción de betacianinas. Sin embargo temperaturas superiores a 60°C reducen significativamente el

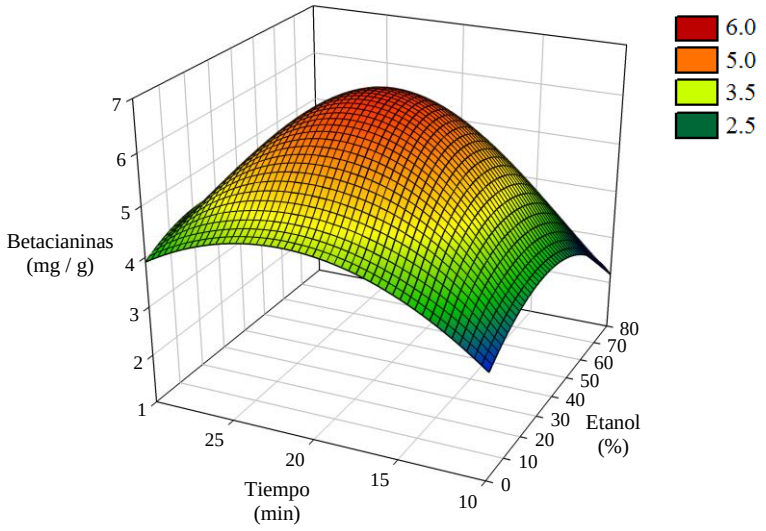
contenido de estos compuestos según la Figura N°9. Al respecto se menciona que la degradación térmica de la betacianina sigue una reacción cinética de primer orden la misma que se presenta a temperaturas > 60°C (Castellar, Obón, *&* Fernández-López, 2006). Por otro lado la degradación térmica promueve que la betacianina se convierta en dos productos tales como el ácido betalamico y ciclodopa-5-glucosido los cuales presentan formas inestables que sufren fenómenos de isomerización y descarboxilación, que trae como consecuencia una reducción gradual del color, cuyos extractos finales pueden llegar a tener un color marrón claro (de Britto *&* Campana-Filho, 2007; Huang *&* von Elbe, 1983). Por otro lado, está demostrado que la degradación de la betacianina en condiciones de oscuridad será menor en comparación con la exposición de betacianina bajo luz porque la luz afecta el electrón de doble enlace en la molécula de betacianina para estar en etapa excitada, lo que resulta en una mayor destrucción de betacianina, todo esto es acelerado por efecto de la temperatura (Reshmi *et al*., 2012). Es importante resaltar que las betacianinas son pigmentos fotosensibles y tienden a degradarse debido a la absorción de luz en la luz visible y el rango ultravioleta de la molécula de betalaina.

Figura N° 10: Contenido de betacianinas en función de la temperatura y etanol (%)



Fuente: Elaboración propia (2017).

Figura N° 11: Contenido de betacianinas en función del tiempo (min) y etanol (%)

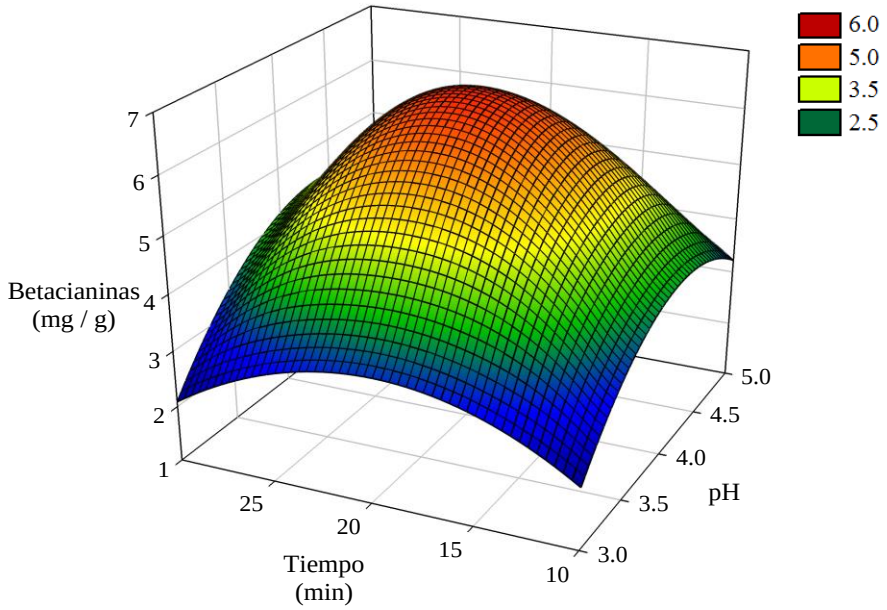


Fuente: Elaboración propia (2017).

Las figuras N°10 y 11 muestran el efecto de uso de disolventes (agua/etanol 96°) para la extracción muestra un efecto inversamente proporcional en el proceso de extracción de estos compuestos, esto reduce el contenido del pigmento de 6,9 a 1,4 mg /g en los extractos de ayrampo dicho efecto es más notorio en concentración de etanol mayores al 30%. Al respecto se demostró que la energía de activación del proceso de degradación de este compuesto es menor en concentraciones de etanol menores al 30%, este efecto se debe a que el etanol es un fuerte agente nucleofilo que ataca la estructura química

de la betacianina, promoviendo su degradación, el sitio activo de ataque del nucleofilo es el grupo N= CH- (Altamirano *et al*., 1993) (Narkprasom *et al*., 2012) . Por tanto, el uso de estos pigmentos en bebidas alcohólicas que contienen alcohol etílico (etanol), tales como cerveza (etanol 3-5% v / v), vino (etanol al 9-20% v / v) y alcoholes destilados (20-75% v / v de etanol) es una opción tecnológicamente atractiva.

Figura N° 12: Contenido de betacianinas en función del tiempo (min) y pH



Fuente: Elaboración propia (2017).

El efecto del pH sobre la extracción de betacianinas se muestra en la Figura N°12, se puede observar que valores <4 y >5, promueven una reducción significativa del contenido de este compuesto. Al respecto debemos mencionar que los cambios de pH en las soluciones alteran la carga del medio proporcionando H u OH según sea el caso, pero estos cambios de pH no afectan tan drásticamente a las betalainas como si es el caso de las antocianinas, esto debido a que las betacianinas no sufren escisión hidrolítica (Reshmi *et al*., 2012). Asimismo los pHs alcalinos reducen significativamente el color de la solución pasando de rojo a amarillo de rojo-violeta, esto promueve que el espectro de absorbancia disminuya drásticamente, esto se explica porque las betacianinas al ser inestables se isomerizan en a betaxantinas (amarillo) en condiciones alcalinas (Reshmi *et al*., 2012).

La estimación de los efectos se realizó por el método de YATES (ver Anexo N°6) y la significancia se pudo obtener a partir de la varianza de las réplicas; el nivel de confiabilidad es de un 95 %, cuyo análisis referimos a continuación:

- El efecto del factor temperatura (T°), es estadísticamente significativo con un 95% de confiabilidad ($S_{Estimado}$= 0.435 > S_{Yates}= 0.435), cuando el factor T° pasa de un nivel - a +, en promedio en toda la región experimental.

- El efecto del factor pH (H), es estadísticamente significativo con un 95% de confiabilidad ($S_{Estimado}$= 7.327 > S_{Yates}= 0.2716) y favorece la recuperación de betacianinas cuando el factor H pasa de un nivel - a +, en promedio en toda la región experimental.
- El efecto del factor tiempo (θ), es estadísticamente significativo con un 95% de confiabilidad ($S_{Estimado}$= 0.639 > S_{Yates}= 0.2716) y favorece la recuperación de betacianinas cuando el factor H pasa de un nivel - a +, en promedio en toda la región experimental.
- El efecto del factor solvente (E), es estadísticamente no significativo con un 95% de confiabilidad ($S_{Estimado}$= -3.813< S_{Yates}= 0.2716) ya que disminuye la recuperación de betacianinas cuando el factor E pasa de un nivel + a -, en promedio en toda la región experimental.

4.1.4. Impacto de las condiciones de operación sobre la capacidad antioxidante.

Como parte del envejecimiento normal del organismo humano, hábitos de consumo y diversas enfermedades, se producen un número considerable de sustancias químicamente inestables, llamadas especies reactivas de oxígeno en que su mayoría son conocidos como radicales libres, en ese sentido los antioxidante son moléculas que previenen la formación descontrolada de radicales libres o inhiben sus reacciones con estructuras celulares (proteínas carbohidratos, lípidos y ADN (Kalt, 2005). Por esa razón, existe una gran interés en investigar fuentes alternativas de antioxidantes naturales que además puedan ser usados como pigmentos, dentro de este grupo se encuentra el ayrampo especie del genero Opuntia.

La capacidad antioxidante en los extractos de ayrampo varia de 8.5 a 20.02 umol Trolox/ g (Tabla N°12). Estos resultados son superiores a los encontrados por otros autores (Jorge *&* Troncoso, 2016). Cabe resaltar que estos autores extrajeron antioxidantes de ayrampo utilizando como solvente agua y temperatura ambiente como condiciones de extracción.

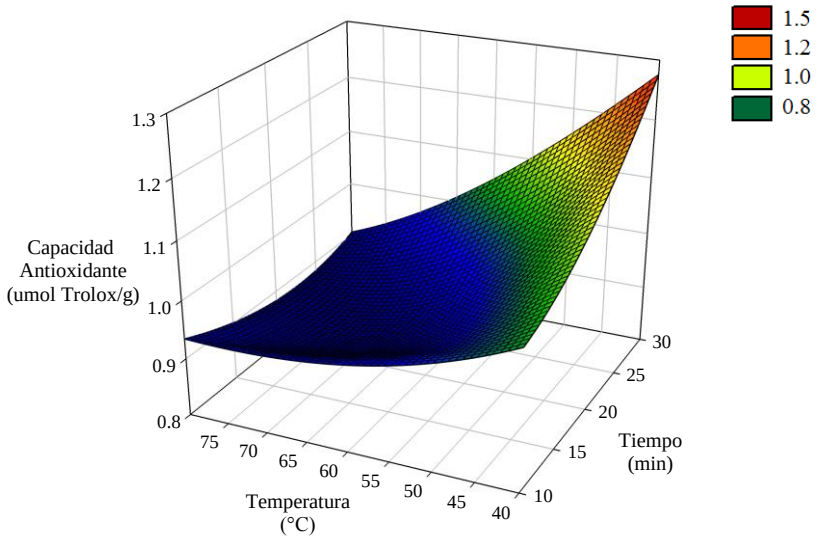
Tabla N° 12: Resultados del efecto de las condiciones de operación sobre la capacidad antioxidante.

pH	Etanol (%)	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Capacidad antioxidante (umol Trolox/g)
3	0	40	10	0.96
5	0	40	10	0.82
3	80	40	10	1.13
5	80	40	10	0.88
3	0	80	10	0.86
5	0	80	10	0.84
3	80	80	10	1.46
5	80	80	10	0.86
3	0	40	30	1.2
5	0	40	30	0.87
3	80	40	30	2.02
5	80	40	30	0.99
3	0	80	30	0.83
5	0	80	30	0.84
3	80	80	30	1.35
5	80	80	30	0.85
4	40	60	20	0.93
4	40	60	20	0.91
4	40	60	20	0.92
4	40	60	20	0.9

Fuente: Elaboración propia (2017).

Los resultados son el promedio de 3 repeticiones y están expresados gramos de ayrampo secos.

Figura N° 13: Efecto de a temperatura y tiempo sobre la capacidad antioxidante



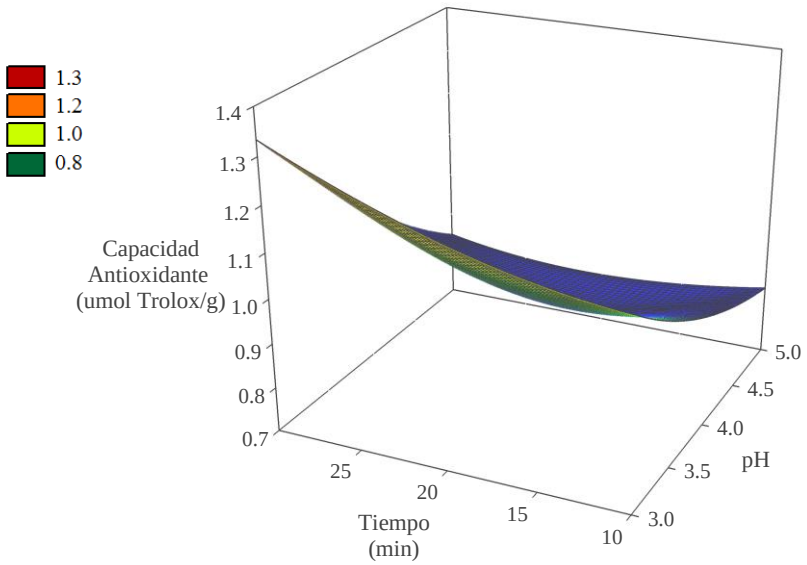
Fuente: Elaboración propia (2017).

La Figura N°13, muestra la relación inversamente proporcional entre la temperatura y la capacidad antioxidante, el efecto de las altas temperaturas sobre la capacidad antioxidante en betacianinas fue demostrado por diversos autores, donde mencionan que temperaturas mayores a 50°C reducen el contenido de betacianinas en los extractos por fenómenos de isomerizacion y descarboxilación de estos compuestos (de Britto *&* Campana-Filho, 2007; Huang *&* von Elbe, 1983). Por otro lado los polifenoles que también son un grupo importante que ofrecen capacidad antioxidante en los extractos de

ayrampo, están correlacionados con la temperatura de extracción. Al respecto Volf *et al*., (2014) mencionan que la degradación se debe a la oxidación e hidrolisis de los polímeros de estos compuestos.

Este valor de la capacidad antioxidante guardó relación directa con el contenido de sus componentes bioactivos (vitamina C y polifenoles totales). Este comportamiento se explica porque la capacidad antioxidante de un alimento se debe a la actividad antioxidante de sus diferentes compuestos, tales como los polifenoles, carotenos, antocianinas, ácido ácido ascórbico y otros, los que tendrían un efecto sinérgico ante la capacidad antioxidante del fruto (Repo *et al*., 2008).

Figura N° 14: Efecto del pH y tiempo sobre la capacidad antioxidante

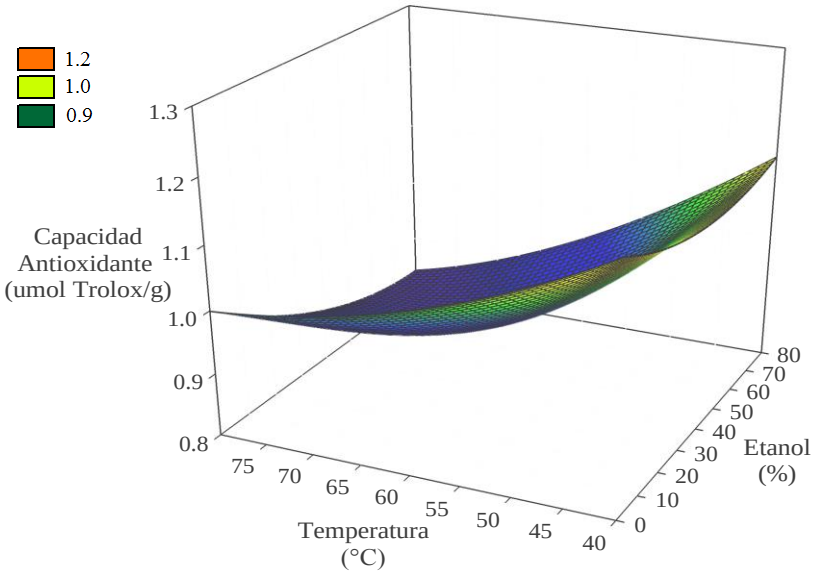


Fuente: Elaboración propia (2017).

La Figura N°14 nos muestra el efecto del pH sobre la capacidad antioxidante, se puede apreciar que pH's ácidos mejoran la capacidad antioxidante en los extractos de ayrampo. Diversos autores mencionan que los pHs ácidos favorecen la estabilidad de las betacianinas (Reshmi *et al.*, 2012). Por otro lado la estabilidad de los polifenoles presentes en los extractos de ayrampo depende fuertemente de a estructura del compuesto fenólico. Al respecto Friedman & Jürgens (2000) mencionan que el grupos fenólicos contienen un grupo OH e H en el anillo bencénico, esto juega un rol muy importante al momento de

evaluar a estabilidad de los polifenoles en diferentes niveles de pH. Por ejemplo, El ácido gálico también es inestable a pHs elevados (pH > 5), debido a la presencia de grupos OH fenólicos conjugados con el anillo bencénico, estos grupos a pHs elevados se desionizan y/o desprotonan del anillo bencénico, desestabilizando al polifenol y reduciendo la capacidad antioxidante (Zeng, Ma, Li, *&* Luo, 2017).

Figura N° 15: Efecto del contenido de etanol y Temperatura sobre la capacidad antioxidante



Fuente: Elaboración propia (2017).

La Figura N°15, muestra que los contenido de etanol menores al 50% favorecen la capacidad antioxidante Los altos contenidos de etanol (>50%) promueven la degradación de las betacianinas. La

degradación de betacianinas a concentraciones superiores al 40% de etanol se debe a la isomerización de este pigmento en isobetanina, este compuesto no presenta actividad antioxidante (Narkprasom *et al.*, 2012). La estimación de los efectos se realizó por el método de YATES (Anexo N°8) y la significancia se pudo obtener a partir de la varianza de las réplicas, el nivel de confiabilidad es de un 95 % de confiabilidad, cuyo análisis referimos a continuación:

- El efecto del factor temperatura (T°), es estadísticamente significativo con un 95% de confiabilidad ($S_{Estimado}$= 0.108 > S_{Yates}= 0.01568), cuando el factor T° pasa de un nivel - a +, en promedio en toda la región experimental.
- El efecto del factor pH (H), es estadísticamente significativo con un 95% de confiabilidad ($S_{Estimado}$= 1.119 > S_{Yates}= 0.01568) y favorece la recuperación de la capacidad antioxidante cuando el factor H pasa de un nivel - a +, en promedio en toda la región experimental.
- El efecto del factor tiempo (θ), es estadísticamente significativo ($S_{Estimado}$= 0.639 > S_{Yates}= 0.01568) ya que favorece la recuperación de la capacidad antioxidante cuando pasa de un nivel - a +, en promedio en toda la región experimental.
- El efecto del factor solvente (E), es estadísticamente no significativo ($S_{Estimado}$= -0.127 < S_{Yates}= 0.01568) ya que

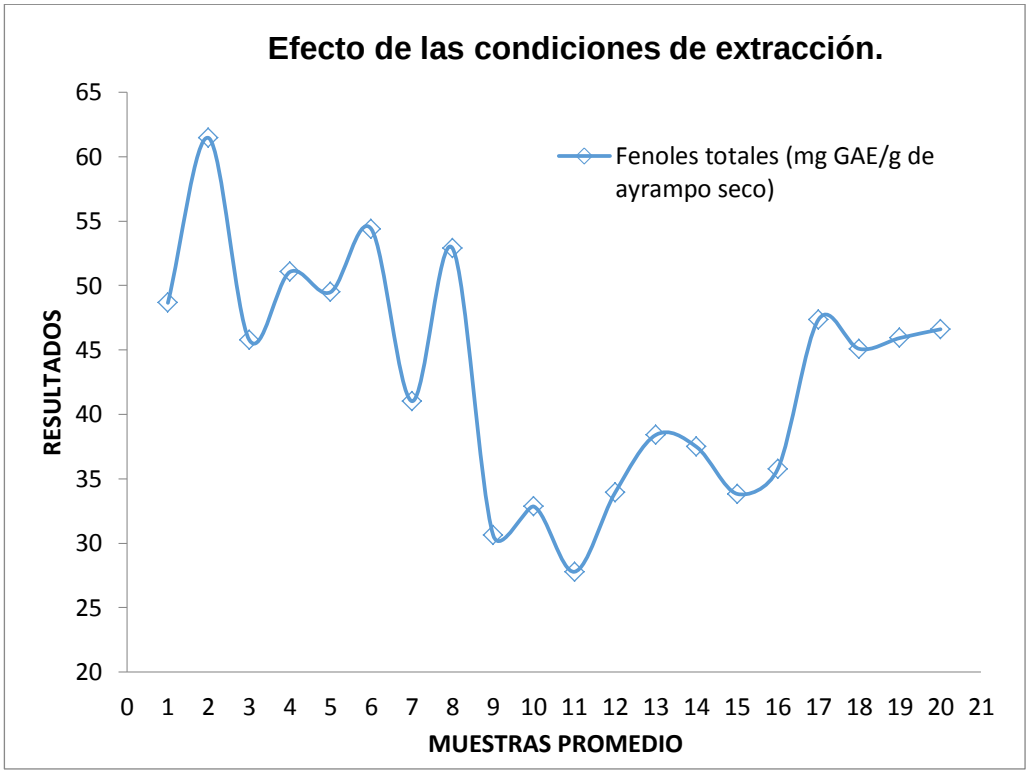
disminuye la recuperación de capacidad antioxidante cuando el factor E pasa de un nivel + a -, en promedio en toda la región experimental.

4.1.5. Efectos de las condiciones generalizadas.

a. Fenoles Totales

Con respecto al gráfico mostrado a continuación se puede identificar que la mayor cantidad de fenoles encontrados se encuentra en la muestra N° 2, y la menor cantidad se encuentra en la muestra N°11.

Gráfico N° 5: Efecto de las condiciones con respecto a la cantidad de Fenoles promedio.



Fuente: Elaboración propia (2017).

Las condiciones de las muestras de mayor y menor cantidad de fenoles se especificada a continuación:

Tabla N° 13: Condiciones realizadas a las muestras de mayor y menor cantidad de fenoles.

Cantidad de fenoles	N° Exp.	pH	Etanol (%)	Temp. (°C)	Tiempo (min)	Fenoles totales (mg GAE/g de ayrampo seco)
Mayor	**2**	**3**	0	40	30	61.46
Menor	**11**	**5**	0	80	10	27.79

Fuente: Elaboración propia (2017).

Gómez Alonso (2006), realizó una investigación con respecto a la optimización en la obtención de extractos fenólicos bioactivos a partir de orujo tinto, con el objeto de maximizar el rendimiento en fenoles extraídos utilizando dosis de enzima, pH, temperatura de tratamiento y composición del agente extractante (etanol con diferentes porcentajes de agua). Concluyendo que se realizó una doble extracción con mezcla hidroalcohólica con 50% de etanol durante 15 min con agitación termostatizada a 40º C y una relación sólido-líquido de 150g por 300 ml de mezcla extractora en condiciones exentas de acidez. Consiguiendo así un rendimiento de extracto total del 5,6% y un rendimiento en polifenoles del 1,52%. Como menciona Gómez (2006) y Desphande & Cheryan (1985); el tiempo óptimo de la extracción con respecto a los fenoles totales, varían desde 15min hasta los 35 min a una temperatura menor a 40°C. Es por ello que el presente trabajo de investigación se

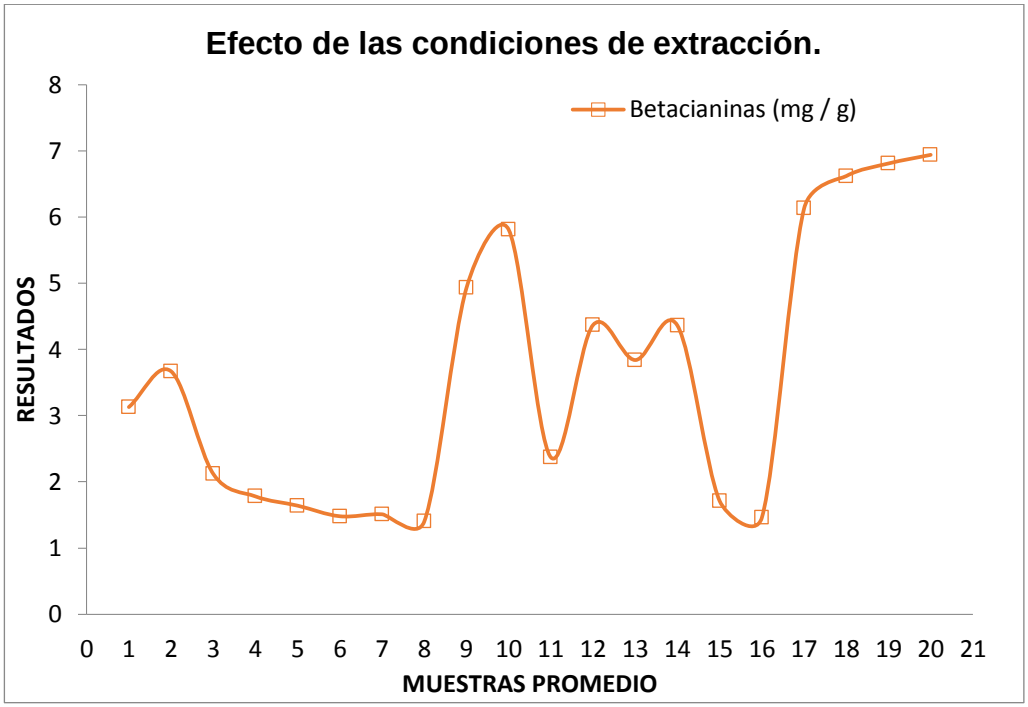
utilizó parámetros de temperatura a partir de 40°C, con tiempos desde 10 a 30 min.

Según Khanna (1968) recomienda extraer fenoles con solventes orgánicos, a la vez menciona que el tiempo de extracción puede variar desde 1min a 24 horas. El solvente orgánico mayormente utilizado es el agua, es por ello que el presente trabajo de investigación se trabajó con dos solventes (etanol 96° y agua), cabe mencionar que la mayor cantidad extraída de fenoles se obtuvo a una temperatura de 40°C y utilizando como solvente 0:100 de etanol 96°:agua.

b. Betacianinas Totales

En el gráfico N°2, se puede observar el número de muestra que obtuvo menor y mayor cantidad de betacianinas.

Gráfico N° 6: Efecto de las condiciones con respecto a la cantidad de betacianinas totales.



Fuente: Elaboración propia (2017).

En el gráfico mostrado pueden observar que la mayor obtención de betacianinas se obtuvo en la muestra N° 20, y la de menor cantidad fue la muestra N 8, cuyas condiciones de extracción se mostrarán a continuación:

Tabla N° 14: Condiciones realizadas a las muestras de mayor y menor cantidad de betacianinas totales.

Cantidad	N° Exp.	pH	Etanol (%)	Temp. (°C)	Tiempo (min)	Betacianinas (mg / g)
Mayor	**20**	**4**	40	60	20	6.94
Menor	**8**	**3**	80	80	30	1.4

Fuente: Elaboración propia (2017).

Según menciona Huaringa (2014), que a temperaturas alrededor de 40°C, no influye significativamente sobre la estabilidad de betacianinas; pero a temperaturas superiores a 60°C existe una disminución gradual, es por ello que visualizamos la menor cantidad de betacianinas en la muestra N 8, cuyas condiciones de extracción fueron a una temperatura de 80°C.

Henriette (2008), menciona que a pH de 4 y 7, no presentan ningún cambio con respecto a su color púrpura, sin embargo a pH's menores a 3.5 sufren cambios de color, pero no llegan a hidrolizarse por lo que se puede utilizar en alimentos ácidos. Con respecto a la temperatura menciona que a T>70°C existe un efecto en la estabilidad de las betacianinas acelerando las reacciones de hidrolisis que dan como productos el ácido betalamico incoloro y otros productos de color marrón. Los resultados obtenidos como mayor cantidad de betacianinas fueron a un pH 4 y teniendo una relación de solvente 40:60 (etanol 96°:agua), se trabajó una temperatura 60°C que es

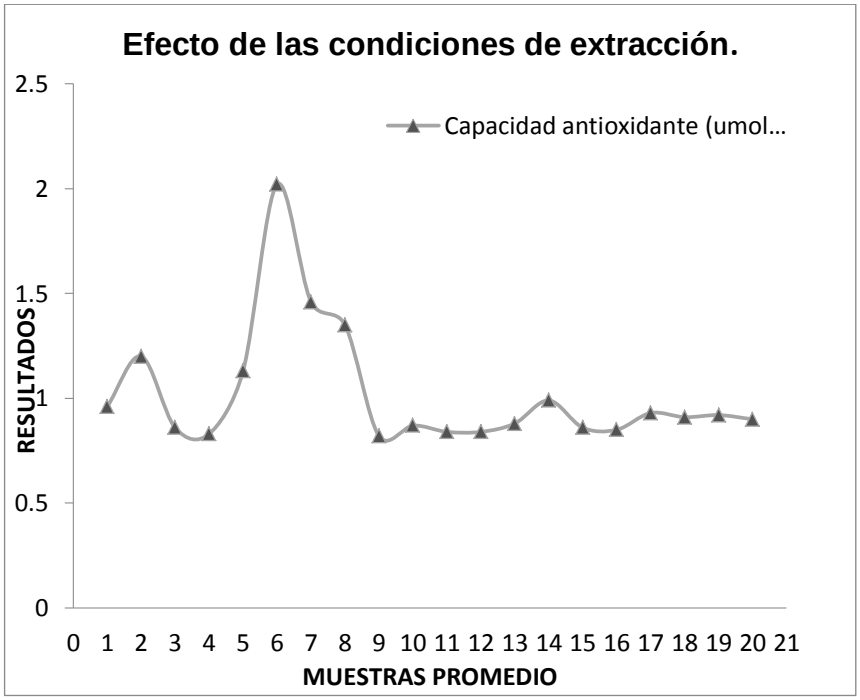
menor a 70°C, es por ello que no existe la presencia del ácido betalamico.

Attoe y Von Elbe (1985), menciona que la estabilidad de las betacianinas con respecto al calor, está en función de la acidez teniendo valores de pH de 4 a 6, son favorables y resistentes a tratamientos térmicos.

c. Capacidad antioxidante

En el gráfico N°7, podemos observar el comportamiento de los resultados promedio con respecto a la capacidad antioxidante.

Gráfico N° 7: Efecto de las condiciones con respecto a la capacidad antioxidante.



Fuente: Elaboración propia (2017).

Con respecto a la gráfica N°3, podemos resaltar que la muestra N°6 obtuvo mayor cantidad de capacidad antioxidante, cuyas condiciones se encuentran a continuación.

Tabla N° 15: Condiciones realizadas a las muestras de mayor y menor cantidad de capacidad antioxidante.

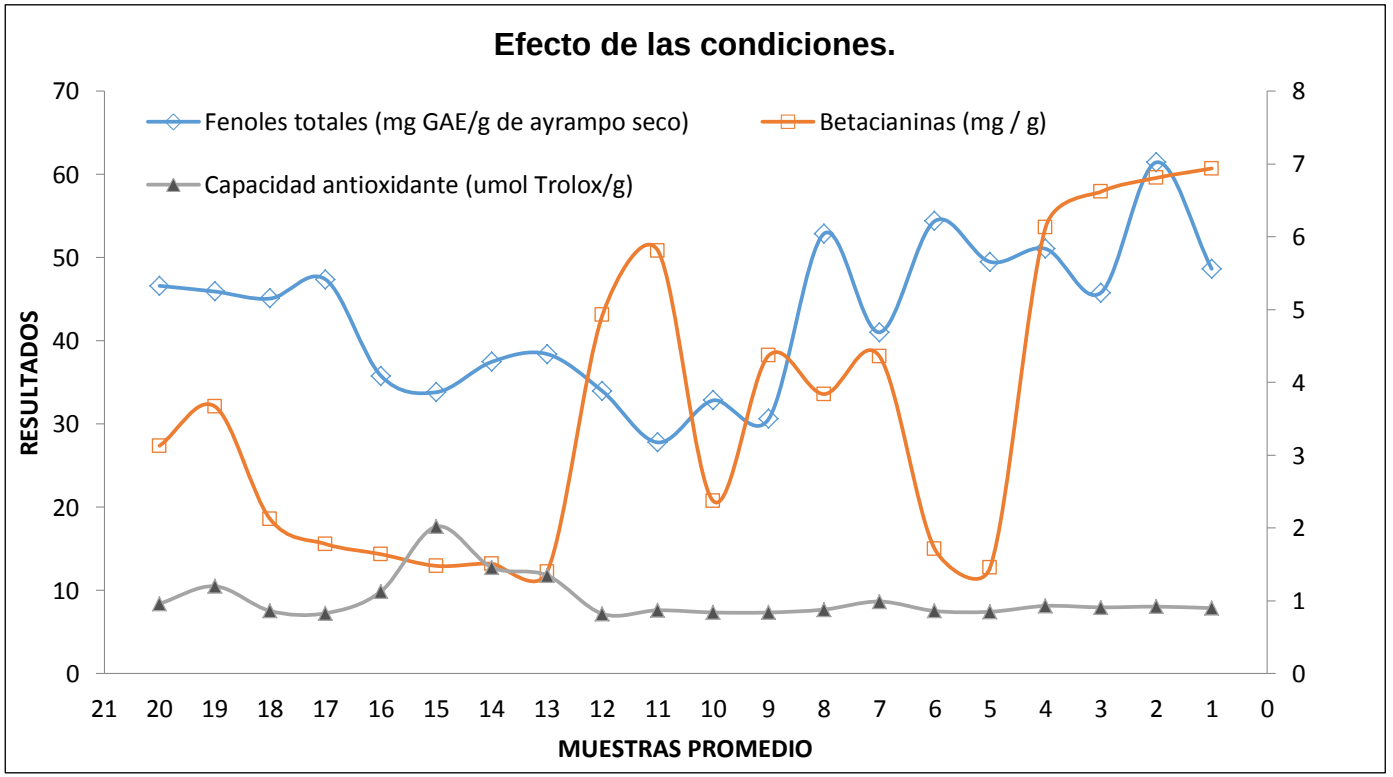
Cantidad	N° Exp.	pH	Etanol (%)	Temp. (°C)	Tiempo (min)	Capacidad antioxidante (umol Trolox/g)
Mayor	**6**	3	80	40	30	2.02
Menor	**9**	5	0	40	10	0.82

Fuente: Elaboración propia (2017).

Dentro de la capacidad antioxidante se encuentra los polifenoles, y betacianinas según Leighton y Urquiaga (1998). Según la investigación realizada por Montalvo (2016), menciona que se obtuvo mayor cantidad de capacidad antioxidante en semillas de ayrampo (1,1 y 0.7 mmoles de Fe-II/100g ff) utilizando el método FRAP mediante la prueba Mann-Whitney.

Con respecto al presente trabajo de investigación se aplicó el método de ABTS adaptado por Arnao *et al* (2001), cuyos resultados varían desde 0.82 a 2.02 µmol Trolox/g de ayrampo seco; comparando estos resultados con los datos obtenidos por Montalvo (2016) serían superiores.

Gráfico N° 8: Efecto de las condiciones de extracción con respecto a los fenoles totales, betacianinas y capacidad antioxidante.



Fuente: Elaboración propia (2017).

CAPITULO V
CONCLUSIONES

De acuerdo a las condiciones experimentales empleadas en este trabajo, es posible concluir con respecto a:

Contenido de fenoles totales:

- Los parámetros de temperatura, el % del solvente, pH y tiempo influyen en la extracción de pigmentos de ayrampo sobre el contenido de fenoles totales teniendo una variabilidad de 27.79 a 61.46mg GAE/g de ayrampo seco.
- Concentraciones superiores al 50% de etanol 96°, promueve una disminución significativa sobre el contenido de fenoles.
- A pH´s <4.5 favorecen la extracción y estabilidad de los fenoles como también a temperaturas < 50°C.
- La desviación estándar demuestra que existe influencia significativa con respecto al pH y temperatura.

Contenido de betacianinas:

- Los parámetros de temperatura, el % del solvente, pH y tiempo influyen en la extracción de pigmentos de ayrampo sobre el contenido de betacianinas totales teniendo una variabilidad de 1.40 a 6.94mg/g de ayrampo seco.
- A T° superiores de 60°C y sin protección de la luz, promueven la degradación de este compuesto.
- Las betacianinas son más solubles en agua y a concentraciones no mayores al 30% de etanol 96°.
- La desviación estándar del diseño estadístico 2^K demuestra que existe influencia significativa con respecto al pH, tiempo y temperatura.

Contenido de capacidad antioxidante:

- Los parámetros de temperatura, el % del solvente, pH y tiempo influyen en la extracción de pigmentos de ayrampo sobre el contenido de capacidad antioxidante teniendo una variabilidad de 0.82 a 2.02µmol Trolox/g de ayrampo seco.
- A temperaturas >50°C promueve la degradación de éste compuesto.
- A pH mayores que 5 promueve la degradación de compuestos fenólicos por ende disminuye su capacidad antioxidante de los pigmentos de ayrampo.
- El 50% de etanol y 50% de agua (solvente) en la extracción de pigmentos, favorece la capacidad antioxidante.
- La desviación estándar del diseño estadístico 2^K demuestra que existe influencia significativa con respecto al pH, tiempo y temperatura.

CAPITULO VI
RECOMENDACIONES

- Es importante realizar estudios complementarios acerca de la situación actual de los cultivos de ayrampo y su comercialización en el país; ya que, los datos que manejan las instituciones peruanas como el Ministerio de Agricultura, el Ministerio de Comercio Exterior y Turismo y el Instituto Nacional de Estadística e Informática, varían mucho entre sí.
- Es recomendable el secado del extracto de ayrampo de forma artificial ya que de esta manera no se altera la fisiología de la misma y el ahorro del factor tiempo es considerable.
- Se recomienda trabajar con pigmentos de ayrampo en la elaboración de jugos, yogures entre otros productos por su estabilidad, por su solubilidad en agua, por la manera de incorporase al alimento y por las características organolépticas estables que presenta el producto terminado.
- Se recomienda extraer pigmentos de ayrampo a una temperatura no mayor a 50°C, en pH ácidos y como solvente de extracción utilicen etanol no mayor al 30%.

CAPITULO VII
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akowuah, G. A., & Zhari, I. (2010). Effect of Extraction Temperature on Stability of Major Polyphenols and Antioxidant Activity of Orthosiphon stamineus Leaf. Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants, 16(3–4), 160–166. http://doi.org/10.1080/10496475.2010.509652
- Akowuah, G. A., Mariam, A., & Chin, J. H. (2009). The effect of extraction temperature on total phenols and antioxidant activity of Gynura procumbens leaf. Pharmacognosy Magazine, 5(17), 81–85.
- Alba J, Chávez J, Verdalet I, Martínez A, Aquino E. Betalaínas, polifenoles y actividad antioxidante en tuna roja mínimamente procesada, almacenada en atmósferas controladas. Gayana Bot. 2014;71(2):222-6.
- Altamirano, R. C., Drdk, M., Saimon, P., Rajniakov, A., Karoviov, J., & Preclk, L. (1993). Thermal degradation of betanine in various wate
- Amie D, Davidovic-Amié D, Beslo D, Trinajstic N. (2003). Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. Croatica chemical acta CCACAA (1):55-6.
- Caldas-Cueva J. P., Morales P, Ludeña F., (2016). Betalleluz-Pallardel I. stability of betacyanin pigments and antioxidants in ayrampo (Opuntia soehrensii Britton and rose) seed extracts and as a yogurt natural colorant. Journal food Processing. 40: 541-549.
- Caldas-Cueva, J. P., Morales, P.,F., Betalleluz-Pallardel, I., Chirinos, R., Noratto, G., & Campos, D. (2016). Stability of Betacyanin Pigments

and Antioxidants in Ayrampo (Opuntia soehrensii Britton and Rose) Seed Extracts and as a Yogurt Natural Colorant. Journal of Food Processing and Preservation, 40(3), 541–549. http://doi.org/10.1111/jfpp.12633

- Campos, D., Gamarra, S., Chirinos, R., Norato, G. and Cisneros, L. 2005. Ayrampo (Opuntia soehrensii Britton & Rose) Andean fruit as a new source of colorant extracts high in betacyanins, phenolic compounds and antioxidant capacity. IFT Annual Meeting, New Orleans, Louisiana, USA.
- Cañizares, J. (1972). Elementos de reproducción de multiplicación de plantas superiores. Edición Revolucionaria, Instituto Cubano del libro, La Habana.
- Castellar M. R., Obón J. M., Fernádez-López J. A. (2008). Fermentation of Opuntia stricta (Haw.) Fruits for Betalains Concentration. J. Agric. Food Chem., 56, 4253–4257.
- Castellar, M. R., Obón, J. M., & Fernández-López, J. A. (2006). The isolation and properties of a concentrated red-purple betacyanin food colourant from Opuntia stricta fruits. Journal of the Science of Food and Agriculture, 86(1), 122–128. http://doi.org/10.1002/jsfa.2285 de Britto, D., & Campana-Filho, S. P. (2007). Kinetics of the thermal degradation of chitosan. Thermochimica Acta, 465(1–2), 73–82. http://doi.org/10.1016/j.tca.2007.09.008.
- Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y. H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of Limnophila aromatica. Journal of Food and Drug Analysis, 22(3), 296–302. http://doi.org/10.1016/j.jfda.2013.11.001.

- Downham, A. & Collins, P. (2000). Colouring our foods in the last and next millennium. International Journal of Food Science and Technology, 35, 5–22.
- Friedman, M., & Jürgens, H. S. (2000). Effect of pH on the stability of plant phenolic compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48(6), 2101–2110. http://doi.org/10.1021/jf990489j
- Gamarra Cabrera, S. (2003). Extracción de Betaninas de las Semillas de Ayrampo (Opuntia Soherensii Britton & Rose), Evalución de la capacidad Antioxidante y Compuestos Fenolicos de los Extractos.
- García GV. (2008). Evolución de compuestos funcionales durante la maduración de frutos de Opuntia stricta.. Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo. Cartagena de Indias: Universidad Politécnica de Cartagena;.
- García I. (2000). Cantidad y calidad antioxidante de alimentos de origen vegetal consumidos en Cuba. Revista Alimentaria. (316):1 03-11.
- García J.(2000).Diseños experimentales factoriales, múltiples y únicos. 50,215-220.México.
- García, E., Hernández, I., Tarango, L., Tarango, M. (2003) Caracterización de la cadena agroalimentaria del nopal tunero e identificación de sus demandas tecnológicas. Fundación Produce. Colegio de postgrados Campus San Luis Potosi. México. 253 p.
- González S. (1987). Botánica I. Editorial Pueblo y Educación.. pp 48 – 49, il. Universidad Politécnica de Cartagena, Paseo Alfonso XIII 44, E-30203 Cartagena (Murcia), España.
- Habibi, Y., Heux, L., Mahrouz, M. y Vignon, M. (2008). Morphological and structural study of seed pericarp of Opuntia ficusindica prickly pear fruits. Carbohydrate Polymers 72: 102–112.

- Henriette M.C.Azeredo (2008). Betalains: properties, sources, applications, and stability – a review.International Journal of Food Science and Technology doi:10.1111/j.1365-2621.2007.01668.
- Huang, A., & von Elbe, J. (1983). Kinetics of the Degradation of Betanine. Journal of Food Science, 50, 1115–1120.
- Huaringa V. A. (2014). Evaluación de betaninas y actividad antioxidante en pulpa concentrada de tuna (opuntia ficus indica) ecotipo morado; Tesis. Universidad Nacional de Huancayo Perú.
- Jorge, P., & Troncoso, L. (2016). Capacidad antioxidante del fruto de la Opuntia apurimacensis (ayrampo) y de la Opuntia ficus-indica (tuna) TT - Antioxidant properties of the fruits Opuntia apurimacensis (ayrampo) and Opuntia ficus-indica (cactus pear). Anales de La Facultad de Medicina, 77(2), 105–109. http://doi.org/10.15381/anales.v77i2.11812
- José A. Larrauri, Pilar Rupérez, and, & Saura-Calixto*, F. (1997). Effect of Drying Temperature on the Stability of Polyphenols and Antioxidant Activity of Red Grape Pomace Peels, 1390–1393.
- José A. Larrauri, Pilar Rupérez, and, & Saura-Calixto*, F. (1997). Effect of Drying Temperature on the Stability of Polyphenols and Antioxidant Activity of Red Grape Pomace Peels, 1390–1393.
- Kalt, W. (2005). Effects of Production and Processing Factors on Major Fruit and Vegetable Antioxidants. Journal of Food Science, 70(1), R11–R19. http://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb09053.x
- Kanner, J., Harel, S., & Granit, R. (2001). Betalains - A new class of dietary cationized antioxidants. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49(11), 5178–5185. http://doi.org/10.1021/jf010456f
- Kitts, D. (1994). Bioaetive substances in food : identification and potential uses. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 72(72), 423–434.

- Kitts, D. (1994). Bioaetive substances in food : identification and potential uses. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 72(72), 423–434.
- Lira, J. (1985). Medicina Andina, Centro de Estudios Regionales Andinos Bartolomé de las Casas, Cusco: Peru.
- Lock de Ugaz O. (1994). Investigación fitoquímica. Método en el estudio de productos naturales. Lima: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima;8-10.
- López S. G. (2014). Opuntia ficus-indica tuna morada y su aplicación en crema Chantilly; Lima Peru.
- Mathews, C., Van Holde, K., & Ahern, K. (2003). Bioquímica.
- Ministerio de Agricultura. (2010). Boletin estadístico de cultivos andinos en el Peru.
- Morales P. (2007).Estudio Comparativo de la Estabilidad de la Betanina, capacidad antioxidante y fenólicos totales de los Extractos de Ayrampo (Opuntia soehrensii Britton & Rose) y Beterraga (Beta vulgaris L.). [Tesis para Optar el Título de: Ingeniero en Industrias Alimentarias]. Universidad Nacional Agraria La Molina; Lima: Perú.
- Moreno-Álvarez, M.,García-Pantaleón, D., Belén-Camacho, D., Medina-Martínez, C. y Muñoz Ojeda, N. (2008) Análisis bromatológico de la tuna Opuntia elatior Miller (Cactaceae). Revista de la Facultad de Agronomía (Luz). 25(1):68- 80
- Mostacero LJ, Mejía CF, Gamarra TO. (2002). Taxonomía de las fanerógamas útiles del Perú. Trujillo Edit. CONCYTEC.
- Narkprasom, K., Su, W. L., Cheng, M. Y., Wang, S. P., Hsiao, S. M., & Tsai, P. J. (2012). Relative Effects of Alcohol and pH on Betacyanin Stability in Aqueous Djulis Extracts and Their Color Qualities after Organic Acid Addition. Journal of Food Quality, 35(4), 283–291. http://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2012.00453.x

- Narkprasom, K., Su, W. L., Cheng, M. Y., Wang, S. P., Hsiao, S. M., & Tsai, P. J. (2012). Relative Effects of Alcohol and pH on Betacyanin Stability in Aqueous Djulis Extracts and Their Color Qualities after Organic Acid Addition. Journal of Food Quality, 35(4), 283–291. http://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2012.00453.x
- Nelson, D., & Cox, M. (2001). Principios de Bioquímica. Omega.Nicoli, M. C., Anese, M., & Parpinel, M. (1999). Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. Trends Food Sci. Technol., 10, 94–100.
- Nicoli, M. C., Anese, M., & Parpinel, M. (1999). Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. Trends Food Sci. Technol., 10, 94–100.
- Prieto-García, F., Filardo-Kerstup, S., PérezCruz, E.,Beltrán-Hernández, R., RománGutiérrez, A y Méndez-Marzo, M.(2006) Caracterización física y química de semillas de Opuntias (Opuntia spp.) cultivadas en el estado de Hidalgo, México. Revista Bioagro 18(3): 163-169.
- Repo R, Encina C. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. Rev Soc Quím Perú. 2008;74(2):108-24. alcohol model systems. Food Chemistry, 46(1), 73–75. http://doi.org/10.1016/0308-8146(93)90078-T
- Reshmi, S. K., Aravindhan, K. M., & Devi, P. S. (2012). 2011 on Stability of Betacyanin Pigments in, 5(4), 5–8.
- Reymex P. (2013). "¿Qué es un pigmento?", accesado el 12 de julio de 2013 www.pigmentosreymex.com.mx, sección "¿Qué es un pigmento?", México, Distrito Federal.
- Romaña, M. (2014). El ayrampo. 2.
- Sanchez Gonzales, N., Jaime Fonseca, M., San Marín Martinez, E., & Zepeda, L. (2013). Extraction, Stability and Separation of Betalains

from Opuntia joconostle c.v. Using Response Surface Methodology. Agricultural and food chemistry, 1-39.

- Sarmiento VH. (2003). Estabilidad Fisicoquímica y Actividad antioxidante de las Betalainas en el Extracto hidrosoluble del Ayrampo (Opuntia soehrensii) durante el proceso de Atomizado. [Tesis para Optar el Grado de: Magister Scientiae]. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima - Perú.
- Scalbert, A., & Williamson, G. (2000). Dietary Intake and Bioavailability ofPolyphenols.J.Nutr,130,20732085,http://doi.org/10.1089/109662000416311.
- Scalbert, A., & Williamson, G. (2000). Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols.J.Nutr,130,2073—2085.
- Soriano Gonzales, R. I. (2001). Obtención del colorante Natural de Ayrampo. Universidad Técnica de Oruro, 78.
- Stintzing, F. C., & Carle, R. (2007). Betalains - emerging prospects for food scientists. Trends in Food Science and Technology, 18(10), 514–525. http://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.04.012
- Stintzing, F. C., & Carle, R. (2007). Betalains - emerging prospects for food scientists. Trends in Food Science and Technology, 18(10), 514–525. http://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.04.012
- Tesoriere L, Butera D, Pintaudi A, Allegra M, Livrea M. Supplementation with cactus pear (Opuntia ficus-indica) fruit decreases oxidative stress in healthy humans: a comparative study with vitamin C. Am J Clin Nutr. 2004 Aug;80:391-5.
- Tesoriere, L., Butera, L., Allegra, M., Fazzari, M. & Livrea, M.A. (2005). Distribution of betalain pigments in red blood cells after consumption of cactus pear fruits and increased resistance of the cells to ex vivo induced oxidative hemolysis in humans. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53, 1266–1270.

- Tipe Herrera, O. (1989). Estudio Técnico para la Obtención de los Colorantes a Partir de los Frutos del Opuntia Soehrensii (Ayrampo). Ayacucho.
- Uma, D. B., Ho, C. W., & Wan Aida, W. M. (2010). Optimization of extraction parameters of total phenolic compounds from henna (Lawsonia inermis) leaves. Sains Malaysiana, 39(1), 119–128.
- Vargas, J. P. (2015). El ayrampo,potencial frutícola en vías de extinción en la Region de Ayacucho. Ayacucho.
- Vázquez Martínez;, C. (2005). Alimentación y nutrición: Manual teórico-práctico. Díaz de Santos.
- Volf, I., Ignat, I., Neamtu, M., & Popa, V. (2014). Thermal stability, antioxidant activity, and photo-oxidation of natural polyphenols. Chemical Papers, 68(1), 121–129. http://doi.org/10.2478/s11696-013-0417-6
- Vollhardt, P. (1994). Química Orgánica. Omega S.A
- Yahia E, Mondragón C. Nutritional componentsnand anti-oxidant capacity of ten cultivars and lines of cactus pear fruit (Opuntia spp.). Food Res Int. 2011 Feb;44:2311–8. doi: 10.1016/j. foodres.2011.02.042.
- Zeng, L., Ma, M., Li, C., & Luo, L. (2017). Stability of tea polyphenols solution with different pH at different temperatures. International Journal of Food Properties, 20(1), 1–18. http://doi.org/10.1080/10942912.2014.983605.
- Zielinska-Przyjemska, M., Olejnik, A., & Dobrowolska-Zachwieja, A. (2009). In vitro Effects of Beetroot Juice and Chips on Oxidative Metabolism and Apoptosis in Neutrophils from Obese Individuals.
- Phytotherapy Research, 23, 49–55. http://doi.org/10.1002/ptr.

- Zumbado H. (2005). Análisis químicos de los alimentos, métodos clásicos. Instituto de farmacias y alimentos. Universidad de la habana. 434P.

ANEXOS

Anexo N° 1: Panel fotográfico.

Fotografía N° 1: Semillas de ayrampo



Fotografía N° 2: Estufa utilizada para secar las semillas de ayrampo.



Fotografía N° 3: Materiales utilizados para la extracción del colorante.



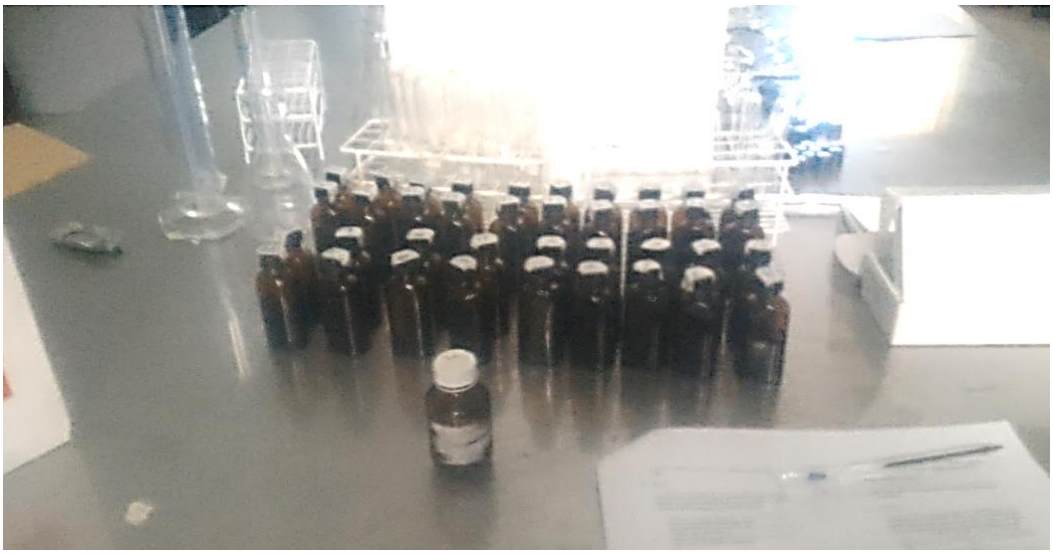
Fotografía N° 4: Agitadores magnéticos trabajando a 750rpm a diferentes temperaturas.



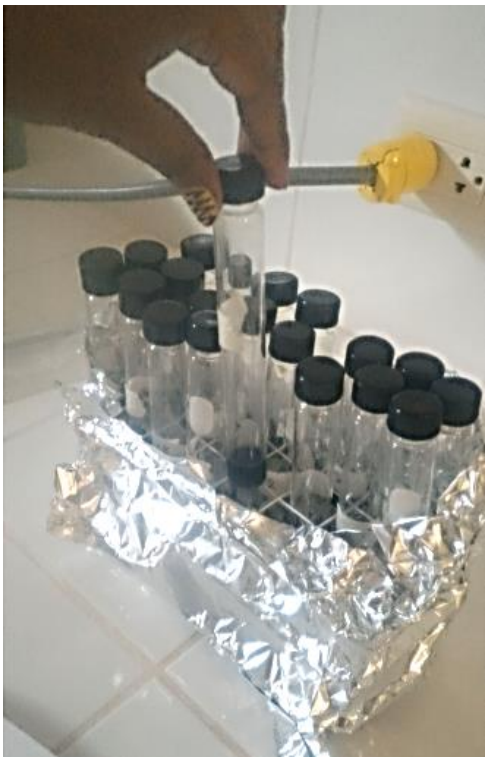
Fotografía N° 5: Materiales de vídrios utilizados para los análisis.



Fotografía N° 6: Envases conteniendo el extracto de semillas de ayrampo.



Fotografía N° 7: Tubos de ensayos con los extractos de ayrampo, preparadas para realizar los análisis.



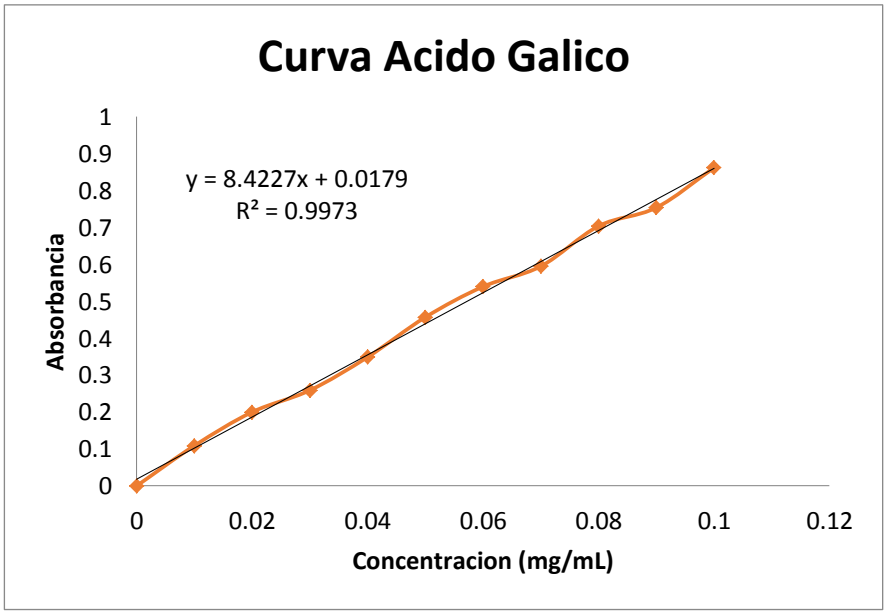
Fotografía N° 8: Muestras con extracto de semillas de ayrampo.



Fotografía N° 9: Tubos con muestras para realizar los análisis.



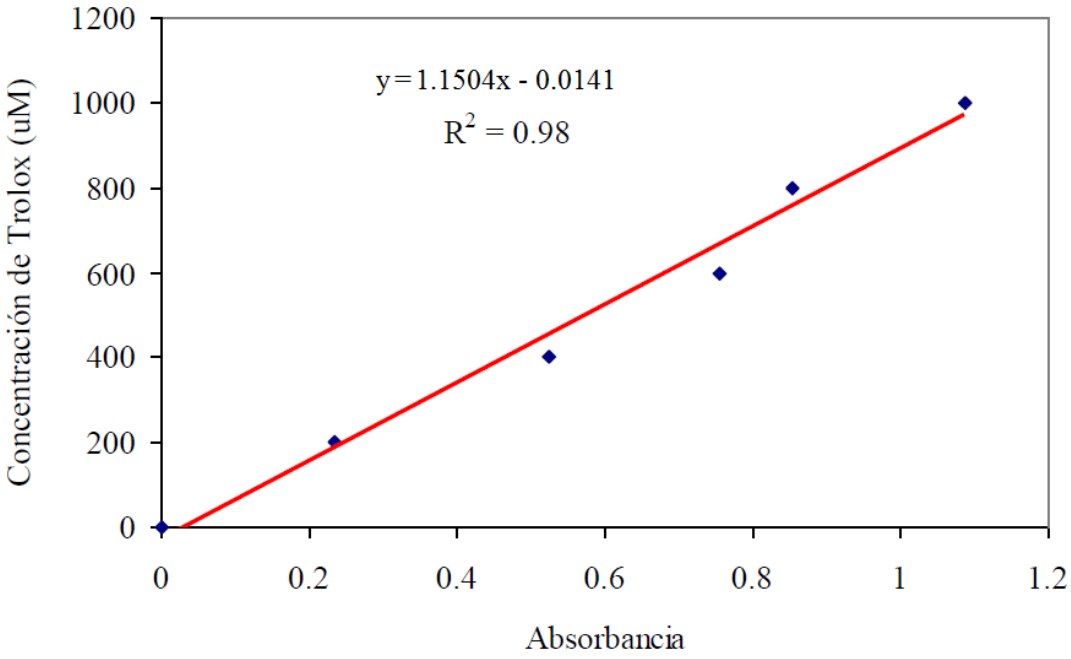
Anexo N° 2: Curva y ecuación del ácido gálico para calcular los compuestos fenólicos.



De acuerdo a la gráfica, se obtiene la siguiente ecuación:

$$Absorbancia = 8{,}4227 * Concentracion + 0{,}0179$$

Anexo N° 3: Curva de Trólox



Anexo N° 4: Resultados del examen fisicoquímico de las semillas de ayrampo.

UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS, BIOQUIMICAS Y BIOTECNOLOGICAS
LABORATORIO DE ENSAYO Y CONTROL DE CALIDAD

Urb. San José S/N Umacollo CAMPUS UNIVERSITARIO H-204/205 ☎ + 51 54 382936 ANEXO 1189
laboratoriodeensayo@ucsm.edu.pe http://www.ucsm.edu.pe Apdo. 1350
AREQUIPA - PERU

INFORME DE ENSAYO
N° DE INFORME: ANA02L16.002487

Nombre del Cliente	: ALEJANDRA GABRIELA APAZA YUCRA
Dirección del Cliente	: II PLATAFORMA M2 LOTE 1 SAN FRANCISCO
RUC	: NO CORRESPONDE
Condición del Muestreado	: POR EL CLIENTE
Descripción	: AIRAMPO EN SEMILLA
Tamaño de muestra	: 250 g
Fecha de Recepción	: 02/12/2016
Fecha de Inicio del Ensayo	: 02/12/2016
Fecha de Emisión de Informe	: 08/12/2016
Página	: 1 de 1

I. ANALISIS FISICO – QUIMICO:

ANÁLISIS	RESULTADO
DETERMINACIÓN DE GRASA (%) Adaptado del Método gravimétrico NTP 209.263.2001	1,50
DETERMINACIÓN DE PROTEINAS (%) Método Kjeldahl, A.O.A.C. Official Methods of Analysis 13 th Edition, 1984.	5,65
DETERMINACIÓN DE CENIZA (%) Método gravimétrico adaptado de NTP 209.265.2001	2,86
DETERMINACION DE HUMEDAD (%) Offical Methods of Analysis. 1990. Association of Official Analytical Chemists. 15th ed. Vol. II. Method 925.45D. USA. p. 1010 - 1011.	4,20
DETERMINACION DE HIDRATOS DE CARBONO (%) Alimentos Cocidos De Reconstitución Instantánea, Por cálculo	85,79
ENERGÍA TOTAL (kcal %) (Tabla De Composición De Alimentos Industrializados Lima 2002 MINSA)	379,26

OBSERVACIONES:

- Este documento al ser emitido sin el simbolo de acreditación, no se encuentra dentro del marco de la acreditación otorgada por INACAL –DA.
- Los resultados emitidos en el presente informe se relacionan únicamente a las muestras ensayadas y no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. Este documento no debe ser reproducido, sin autorización escrita del Laboratorio de Ensayo y Control de Calidad

Q.F. Ricardo A. Abril Ramírez
COFA 00624
ESPECIALISTA EN CONTROL DE CALIDAD LECC

LABORATORIO DE ENSAYO Y CONTROL DE CALIDAD

Anexo N° 5: Método de YATES (Fenoles Totales).

pH (H)	Etanol (E)	Temp. (T)	Tiempo (θ)	R	1	2	3	Efecto	S. Estimado
-	-	-	-	48.66	79.28	167.18	315.62	X	19.726
+	-	-	-	30.62	87.90	148.43	359.86	H	44.982
-	+	-	-	49.49	73.58	186.19	-54.33	E	-6.791
+	+	-	-	38.41	74.85	173.67	-7.45	HE	-0.931
-	-	+	-	45.79	94.31	-29.12	9.89	T	1.237
+	-	+	-	27.79	91.88	-25.21	10.25	HT	1.281
-	+	+	-	41.03	85.00	-45.54	17.76	ET	2.220
+	+	+	-	33.83	88.67	-34.23	7.46	HET	0.932
-	-	-	+	61.46	-18.04	8.62	-18.75	θ	-2.344
+	-	-	+	32.85	-11.08	1.27	-12.52	θH	-1.565
-	+	-	+	54.40	-18.01	-2.43	3.91	θE	0.489
+	+	-	+	37.48	-7.20	3.68	4.32	θEH	0.539
-	-	+	+	51.06	-28.62	6.96	-7.98	Tθ	-0.998
+	-	+	+	33.94	-16.92	10.81	6.10	HTθ	0.763
-	+	+	+	52.89	-17.12	11.69	3.85	ETθ	0.481
+	+	+	+	35.78	-17.11	0.01	-5.68	HETθ	-0.710

Leyenda

pH	(H)
Etanol	(E)
Temperatura	(T)
Tiempo	(θ)

Anexo N° 6: Puntos centrales (Fenoles).

pH (H)	Etanol (E)	Temp (T)	Tiempo (θ)	R
0	0	0	0	47.37
0	0	0	0	45.09
0	0	0	0	45.93
0	0	0	0	46.61

Desv. Estándar: 0.97035
S.efecto: 0.48518; dato *2
Donde k: 2 (α=0.95) nivel de significancia
Se cumple:
S estimado > k*S. efecto (Es significativo)
S estimado > 0.970 (Es significativo)

Anexo N° 7: Método de YATES (Betacianinas).

pH (H)	Etanol (E)	Temp. (T)	Tiempo (θ)	R	1	2	3	Efecto	Estimado
-	-	-	-	10.00	13.00	26.69	53.89	X	3.368
+	-	-	-	3.00	13.69	27.20	58.62	H	7.327
-	+	-	-	11.00	12.21	35.45	-30.50	E	-3.813
+	+	-	-	2.70	14.99	23.16	-30.94	HE	-3.868
-	-	+	-	8.97	15.19	-15.30	3.48	T	0.435
+	-	+	-	3.24	20.27	-15.20	7.26	HT	0.908
-	+	+	-	12.23	10.49	-19.09	-5.04	ET	-0.630
+	+	+	-	2.76	12.67	-11.86	-3.20	HET	-0.400
-	-	-	+	11.33	-7.00	0.70	5.11	θ	0.639
+	-	-	+	3.86	-8.30	2.78	-12.29	θH	-1.536
-	+	-	+	15.94	-5.73	5.08	0.09	θE	0.012
+	+	-	+	4.33	-9.47	2.18	7.23	θEH	0.304
-	-	+	+	7.95	-7.47	-1.30	2.08	Tθ	0.260
+	-	+	+	2.55	-11.61	-3.74	-2.90	HTθ	-0.363
-	+	+	+	9.56	-5.40	-4.14	-2.44	ETθ	-0.305
+	+	+	+	3.11	-6.46	-1.06	3.08	HETθ	0.385

Leyenda

pH	(H)
Etanol	(E)
Temperatura	(T)
Tiempo	(θ)

Anexo N° 8: Puntos centrales (Betacianinas)

pH (H)	Etanol (E)	Temp. (T)	Tiempo (θ)	R
0	0	0	0	9.12
0	0	0	0	9.71
0	0	0	0	9.43
0	0	0	0	9.68

Desv. Estándar: 0.2716
S.efecto: 0.1358;
Donde k: 2 (α=0.95)
Se cumple:
S estimado > k*S. efecto (Es significativo)
S estimado > 0.2716

Anexo N° 9: Método de YATES (Capacidad antioxidante).

pH (H)	Etanol (E)	Temp. (T)	Tiempo (θ)	R	1	2	3	Efecto	Estimado
-	-	-	-	0.96	1.78	3.80	7.82	X	0.489
+	-	-	-	0.82	2.02	4.02	8.95	H	1.119
-	+	-	-	1.13	1.70	5.08	-1.01	E	-0.127
+	+	-	-	0.88	2.33	3.87	-1.85	HE	-0.232
-	-	+	-	0.86	2.07	-0.39	0.86	T	0.108
+	-	+	-	0.84	3.01	-0.63	1.47	HT	0.183
-	+	+	-	1.46	1.67	-1.36	-0.69	ET	-0.087
+	+	+	-	0.86	2.20	-0.49	-0.14	HET	-0.018
-	-	-	+	1.20	-0.14	0.24	5.11	θ	0.639
+	-	-	+	0.87	-0.25	0.63	-1.21	θH	-0.151
-	+	-	+	2.02	-0.02	0.94	-0.24	θE	-0.029
+	+	-	+	0.99	-0.60	0.53	0.09	θEH	0.011
-	-	+	+	0.83	-0.33	-0.12	0.39	Tθ	0.049
+	-	+	+	0.84	-1.04	-0.58	-0.41	HTθ	-0.012
-	+	+	+	1.35	0.01	-0.71	-0.46	ETθ	-0.018
+	+	+	+	0.85	-0.50	-0.52	0.20	HETθ	0.023

Leyenda

pH	(H)
Etanol	(E)
Temperatura	(T)
Tiempo	(θ)

Anexo N° 10: Puntos centrales (Capacidad antioxidante).

pH (H)	Etanol (E)	Temp. (T)	Tiempo (θ)	R
0	0	0	0	0.93
0	0	0	0	0.91
0	0	0	0	0.92
0	0	0	0	0.90

Desv. Estándar: 0.01568
S.efecto: 0.00784;
Donde k: 2 (α= 0.95)
Se cumple:
S estimado > k*S. efecto (Es significativo)
S estimado > 0.01568 (Es significativo)

Anexo N° 11: Resultados de las repeticiones realizadas para cada análisis.

Análisis de fenoles totales con 03 repeticiones

FENOLES								
i	pH (H)	Etanol (E)	Temperatura (T)	Tiempo (θ)	R1	R2	R3	Promedio
1	-	-	-	-	48.55	49.55	47.88	48.66
2	+	-	-	-	30.45	29.88	31.53	30.62
3	-	+	-	-	48.95	49.85	49.68	49.49
4	+	+	-	-	38.45	38.95	37.83	38.41
5	-	-	+	-	45.55	44.98	46.85	45.79
6	+	-	+	-	27.85	27.35	28.16	27.79
7	-	+	+	-	40.52	41.33	41.23	41.03
8	+	+	+	-	33.28	34.11	34.09	33.83
9	-	-	-	+	60.89	62.18	61.32	61.46
10	+	-	-	+	32.45	32.65	33.44	32.85
11	-	+	-	+	54.89	54.24	54.07	54.4
12	+	+	-	+	37.89	38.01	36.53	37.48
13	-	-	+	+	50.89	49.88	52.4	51.06
14	+	-	+	+	33.92	34.02	33.88	33.94
15	-	+	+	+	52.85	53.15	52.67	52.89
16	+	+	+	+	35.48	35.89	35.98	35.78
17	4	40	60	20	47.62	47.69	46.8	47.37
18	4	40	60	20	44.17	45.2	45.9	45.09
19	4	40	60	20	45.9	45.98	45.9	45.93
20	4	40	60	20	45.99	46.87	46.98	46.61

Análisis de betacianinas con 03 repeticiones

BETACIANINAS								
i	pH (H)	Etanol (E)	Temperatura (T)	Tiempo (θ)	R1	R2	R3	Promedio
1	-	-	-	-	3.04	3.04	3.31	3.13
2	+	-	-	-	4.95	4.95	4.89	4.93
3	-	+	-	-	1.65	1.82	1.45	1.64
4	+	+	-	-	3.95	3.82	3.76	3.84
5	-	-	+	-	2.42	2.08	1.88	2.12
6	+	-	+	-	2.38	2.37	2.35	2.37
7	-	+	+	-	1.32	1.7	1.48	1.51
8	+	+	+	-	1.88	1.43	1.81	1.71
9	-	-	-	+	3.54	3.8	3.56	3.63
10	+	-	-	+	5.82	5.78	5.83	5.81
11	-	+	-	+	1.48	1.43	1.52	1.48
12	+	+	-	+	4.66	4.18	4.24	4.36
13	-	-	+	+	1.89	1.56	1.9	1.78
14	+	-	+	+	4.16	4.63	4.31	4.37
15	-	+	+	+	1.45	1.32	1.42	1.4
16	+	+	+	+	1.12	1.92	1.35	1.46
17	4	40	60	20	6.13	6.12	6.15	6.13
18	4	40	60	20	6.62	6.62	6.63	6.62
19	4	40	60	20	6.8	6.81	6.81	6.81
20	4	40	60	20	6.93	6.94	6.94	6.94

Cuadro N° 3: Análisis de capacidad antioxidante con 03 repeticiones

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE								
i	pH (H)	Etanol (E)	Temperatura (T)	Tiempo (θ)	R1	R2	R3	Promedio
1	-	-	-	-	1.02	0.91	0.95	0.96
2	+	-	-	-	0.78	0.85	0.83	0.82
3	-	+	-	-	1.05	1.25	1.1	1.13
4	+	+	-	-	0.81	0.95	0.88	0.88
5	-	-	+	-	0.92	0.88	0.78	0.86
6	+	-	+	-	0.88	0.81	0.82	0.84
7	-	+	+	-	1.56	1.38	1.45	1.46
8	+	+	+	-	0.78	0.89	0.92	0.86
9	-	-	-	+	1.15	1.25	1.19	1.2
10	+	-	-	+	0.79	0.88	0.94	0.87
11	-	+	-	+	1.95	2.05	2.07	2.02
12	+	+	-	+	1.03	0.98	0.95	0.99
13	-	-	+	+	0.75	0.89	0.85	0.83
14	+	-	+	+	0.82	0.91	0.8	0.84
15	-	+	+	+	1.42	1.29	1.34	1.35
16	+	+	+	+	0.81	0.89	0.84	0.85
17	**4**	40	60	20	0.91	0.95	0.93	0.93
18	**4**	40	60	20	0.95	0.87	0.92	0.91
19	**4**	40	60	20	0.9	0.96	0.9	0.92
20	**4**	40	60	20	0.91	0.8	0.98	0.90

Anexo N° 12: Análisis de Varianza.

Cuadro N° 4: Análisis de Varianza para Capacidad antioxidante

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
A:pH	0.511225	1	0.511225	36.08	0.0039
B:Temperatura	0.060025	1	0.060025	4.24	0.0187
C:Etanol	0.3364	1	0.3364	23.74	0.0082
D:Tiempo	0.081225	1	0.081225	5.73	0.0482
AB	0.0256	1	0.0256	1.81	0.0201
AC	0.225625	1	0.225625	15.92	0.0163
AD	0.0441	1	0.0441	3.11	0.0125
BC	0.000025	1	0.000025	0.00	0.0385
BD	0.1296	1	0.1296	9.15	0.0390
CD	0.024025	1	0.024025	1.70	0.2628
ABC	0.0049	1	0.0049	0.35	0.5881
ABD	0.075625	1	0.075625	5.34	0.0820
ACD	0.0169	1	0.0169	1.19	0.3362
BCD	0.04	1	0.04	2.82	0.1682
ABCD	0.027225	1	0.027225	1.92	0.2380
Error total	0.05668	4	0.01417		
Total (corr.)	1.65918	19			

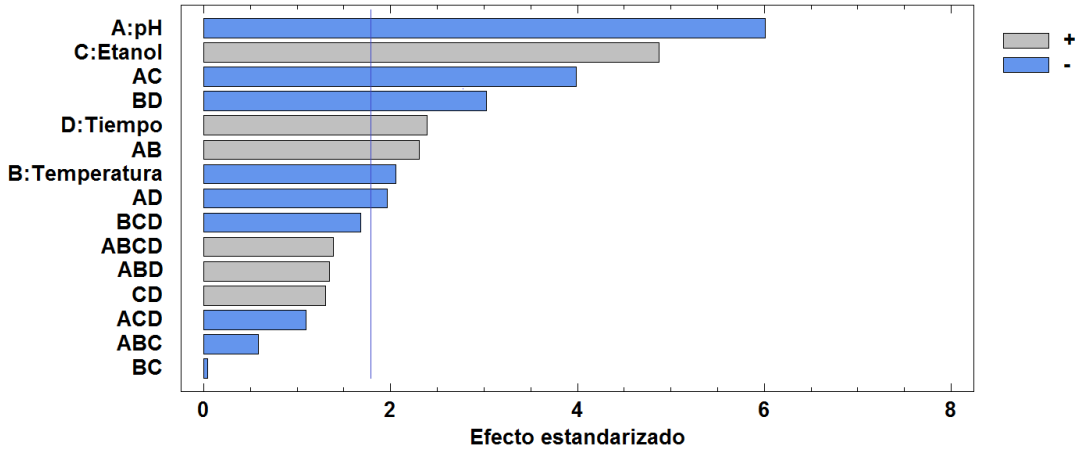
Cuadro N° 5: Análisis de Varianza para Betacianinas

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
A:pH	235.853	1	235.853	48.47	0.0022
B:Temperatura	8.68776	1	8.68776	1.79	0.0224
C:Etanol	7.19581	1	7.19581	1.48	0.0298
D:Tiempo	1.39831	1	1.39831	0.29	0.0203
AB	3.35806	1	3.35806	0.69	0.0428
AC	6.54081	1	6.54081	1.34	0.0308
AD	0.0115562	1	0.0115562	0.00	0.0355
BC	0.0430562	1	0.0430562	0.01	0.0296
BD	10.224	1	10.224	2.10	0.0208
CD	0.888306	1	0.888306	0.18	0.0912
ABC	0.0264063	1	0.0264063	0.01	0.9448
ABD	3.17731	1	3.17731	0.65	0.4644
ACD	0.00140625	1	0.00140625	0.00	0.9873
BCD	1.55626	1	1.55626	0.32	0.6019
ABCD	1.91131	1	1.91131	0.39	0.5648
Error total	19.4623	4	4.86558		
Total (corr.)	300.335	19			

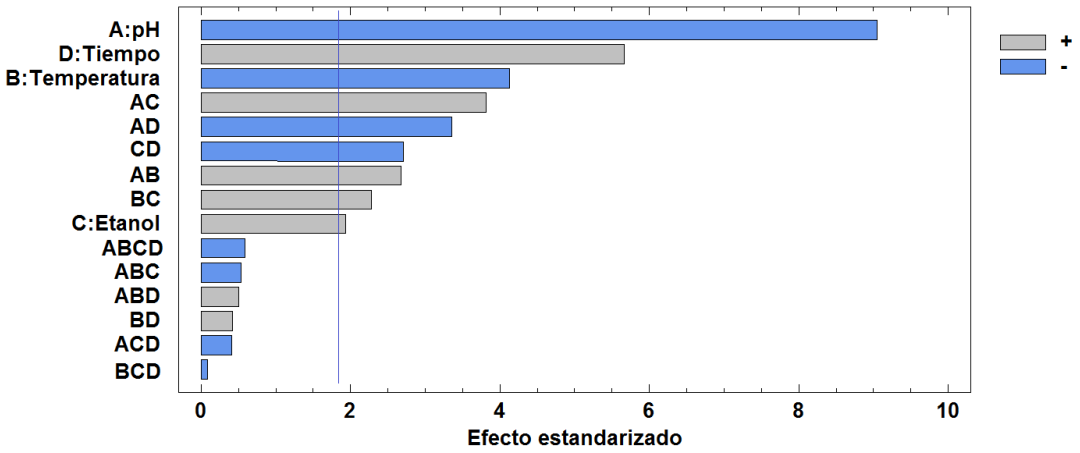
Cuadro N° 6: Análisis de Varianza para fenoles totales

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
A:pH	1123.59	1	1123.59	81.91	0.0008
B:Temperatura	61.0742	1	61.0742	4.45	0.0125
C:Etanol	7.75623	1	7.75623	0.57	0.0439
D:Tiempo	122.324	1	122.324	8.92	0.0405
AB	14.478	1	14.478	1.06	0.0323
AC	54.2432	1	54.2432	3.95	0.0176
AD	40.4496	1	40.4496	2.95	0.0111
BC	0.0961	1	0.0961	0.01	0.0373
BD	2.41803	1	2.41803	0.18	0.6962
CD	4.68723	1	4.68723	0.34	0.0402
ABC	3.8416	1	3.8416	0.28	0.6247
ABD	3.40402	1	3.40402	0.25	0.6445
ACD	2.29522	1	2.29522	0.17	0.7035
BCD	11.2896	1	11.2896	0.82	0.4156
ABCD	15.0544	1	15.0544	1.10	0.3539
Error total	54.8674	4	13.7168		
Total (corr.)	1521.87	19			

Anexo N° 13: Diagrama de Pareto para Capacidad antioxidante.



Anexo N° 14: Diagrama de Pareto para Fenoles totales.



Anexo N° 15: Diagrama de Pareto para Betacianinas.

