

**UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ MARÍA
ARGUEDAS
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA
AGROINDUSTRIAL**



**EFECTO DE ETANOL Y ÁCIDO CÍTRICO EN LAS
PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DEL COLORANTE
EXTRAÍDO DE LOS TALLOS DE YANALI (*Bocconia
frutescens*).**

Presentado por

Br. NILBER PÉREZ PALOMINO

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

ANDAHUAYLAS – APURÍMAC – PERÚ

2017

UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ MARÍA ARGUEDAS
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



Presentado por
Br. NILBER PÉREZ PALOMINO

**EFECTO DE ETANOL Y ÁCIDO CÍTRICO EN LAS
PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DEL COLORANTE
EXTRAÍDO DE LOS TALLOS DE YANALI (*Bocconia
frutescens*).**

ASESOR
PhD, FLORENTINO LÁZARO MENDOZA MARÍN

ANDAHUAYLAS – APURÍMAC – PERÚ
2017

Dedicatoria

A Dios dedico y ofrezco este logro alcanzado, siendo el cimiento espiritual más valioso que me guía por el camino correcto.

A mis queridos padres Mario Pérez Alarcón y Augustina Palomino Ramos que siempre me han estimulado y animado para seguir adelante.

A mis hermanos: Noemi, Roswil y Mildree, por brindarme su apoyo incondicional en todo momento de mi vida.

Epígrafe

“Es con el corazón como vemos correctamente; lo esencial es invisible a los ojos”.

(Frase de “El principito” de Antoine de Saint-Exupéry).

Agradecimiento

A la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial (EPIA) de la Universidad Nacional José María Arguedas por haberme permitido utilizar los laboratorios para realizar la presente tesis.

A mi asesor de tesis, el PhD. Florentino Lázaro Mendoza Marín por su permanente apoyo, orientación y acertadas sugerencias durante la realización de este trabajo de tesis.

A la Blg. María del Carmen Delgado Laime por colaborar en la presente tesis con su apoyo constante.

Al MSc. Julio César Sichez Muñoz, al Ing. Fredy Taipe Pardo y al MSc. Carlos Alberto Ligarda Samanez, por su aporte al desarrollo de la presente tesis.

A todos mis profesores, amigos y compañeros, por brindarme sus enseñanzas y ofrecerme su amistad a lo largo del tiempo que estuvimos albergados en las aulas de la UNAJMA, nuestra alma mater.

A todas aquellas personas que de una u otra forma, colaboraron o participaron en la realización de esta tesis.

Índice	
Dedicatoria	i
Epígrafe.....	ii
Agradecimiento.....	iii
Índice.....	iv
Índice de figuras	vi
Índice de tablas	vii
Índice de anexos.....	viii
Abreviaturas y Símbolos	ix
Resumen	x
Abstract	xi
CAPÍTULO 1 INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 2 REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Antecedentes de la investigación.....	3
2.2. Fundamentación científica.	5
2.2.1. Método para la extracción de los pigmentos.	5
2.2.2. Aspectos históricos.	6
2.2.3. La importancia de los alcaloides en la farmacia.	7
2.2.4. Yanali.....	8
2.2.4.1. Etimología.....	8
2.2.4.2. Descripción	8
2.2.4.3. Clasificación taxonómica.....	9
2.2.4.4. Composición química.....	9
2.2.4.5. Principales usos y propiedades del yanali.....	9
2.2.5. pH.....	12
2.2.6. Absorbancia.....	13
2.2.7. Variación de color	14

CAPÍTULO 3 MATERIALES Y METODOLOGÍA.....	19
3.1. Materiales de investigación.....	19
3.1.1. Equipos de investigación.	19
3.1.2. Materia vegetal	19
3.1.3. Materiales no vegetales.	20
3.1.4. Reactivos e insumos.....	20
3.2. Metodología de investigación.....	20
3.2.1. Localidad e institución donde se desarrolla el proyecto.....	20
3.2.2. Material de estudio.....	21
3.2.3. Universo y/o población.....	21
3.2.4. Muestra.....	21
3.2.5. Unidad de Análisis	21
3.2.6. Metodología para la extracción del colorante natural.	22
3.2.7. Método para la determinación de pH.	23
3.2.8. Metodología para la determinación de la absorbancia.	23
3.2.9. Método para la evaluación de la variación de color.....	24
3.2.10. Metodología del análisis estadístico.....	24
CAPITULO 4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	26
4.1.1. Resultados de la determinación de pH.....	26
4.1.2. Resultados de absorbancia.....	28
4.1.3. Resultados de la evaluación la variación de color.	30
CONCLUSIONES.....	35
RECOMENDACIONES.....	36
SUGERENCIAS.....	37
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38
ANEXOS	41

Índice de figuras

Figura 1. Representación en el plano horizontal del espacio de color $L^* a^* b^*$...	15
Figura 2. Representación tridimensional del espacio de color $L^* a^* b^*$	16
Figura 3. Diferencia del color en el espacio $L^* a^* b^*$	17
Figura 4. Diagrama de cromaticidad.	18
Figura 5. Diagrama de flujo utilizado en la investigación.....	23
Figura 6. Diseño de contrastación que se utilizó para la investigación.....	25
Figura 7. Gráfica de efectos principales para pH..	26
Figura 8. Gráfica de efectos principales para Absorbancia.	28
Figura 9. Gráfica de efectos principales para a^*	30
Figura 10. Gráfica de efectos principales para b^*	31
Figura 11. Gráfica de efectos principales para L^*	32

Índice de tablas

Tabla 1. Descripción de equipos e instrumentos.....	19
Tabla 2. Materia vegetal.....	19
Tabla 3. Descripción de materiales.....	20
Tabla 4. Descripción de reactivos y sustancias.....	20
Tabla 5. Anova.	25
Tabla 6. Resultados para los valores de PH.	26
Tabla 7. Resultados para los valores de absorbancia.....	28
Tabla 8. Resultados para los valores de CIELAB.....	30
Tabla 9. Resultados para pH.	47
Tabla 10. Resultados para absorbancia.....	48
Tabla 11. Resultados para CIELAB.	49
Tabla 12. ANOVA, L* vs porcentajes de etanol y ácido cítrico.	50
Tabla 13. ANOVA, b* vs porcentajes de etanol y ácido cítrico.	51
Tabla 14. ANOVA, a* vs porcentajes de etanol y ácido cítrico.	52
Tabla 15. ANOVA, absorbancia* vs porcentajes de etanol y ácido cítrico.....	53
Tabla16. ANOVA, pH* vs porcentajes de etanol y ácido cítrico.	54

Índice de anexos

ANEXO 1. Imágenes de la planta de Yanali (<i>Bocconia frutescens</i>)	41
ANEXO 2. Imágenes de proceso de extracción	42
ANEXO 3. Imágenes de los resultados de pH.	44
ANEXO 4. Imágenes de los resultados de Absorbancia	45
ANEXO 5. Imágenes de los resultados de color L*, a* y b*	46
ANEXO 6. Cuadro de resultados.....	47
ANEXO 7. Resultados de análisis de ANOVA.....	50
ANEXO 8. Certificado de la clasificación botánica.....	56

Abreviaturas y Símbolos

ΔE_{ab}	:	Diferencia total del color
L^*	:	Luminosidad
a^*	:	Parámetro de color de rojo a verde
b^*	:	Parámetro de color de amarillo a azul
DCA	:	Diseño completamente al azar
ΔL^*	:	Diferencia de luminosidad
Δb^*	:	Diferencia de amarillo a azul
Δa^*	:	Diferencia de rojo a verde
$\%E$:	Porcentaje de error relativo
r^2	:	Coeficiente de determinación
ΔC^*	:	Diferencia en la saturación o croma
Δh	:	Diferencia del ángulo del tono
N	:	Número de observaciones
H_0	:	Hipótesis nula
H_A	:	Hipótesis alterna
H^*_{ab}	:	Diferencia del tono
HCl	:	ácido clorhídrico
nm	:	nano metro

Resumen

En la presente investigación se tuvo como objetivo determinar los efectos de etanol y ácido cítrico en las propiedades fisicoquímicas del colorante extraído de los tallos de yanali (*Bocconia frutescens*). Para cumplir con el objetivo planteado, se efectuaron corridas experimentales utilizando tallos de yanali, para este proceso de extracción se aplicó un diseño experimental factorial de 2^2 , con dos factores de porcentajes de etanol y ácido cítrico en 2 niveles (90 y 35) %, y (0.05 y 0.03) % respectivamente. Para determinar el efecto de etanol y ácido cítrico en las propiedades fisicoquímicas como, el pH, la absorbancia y la variación de color. Se realizó la extracción del colorante por el método de maceración en solución de etanol más el ácido cítrico a una temperatura constante de 60 °C en una estufa por 24 horas, una vez extraídos los colorantes, se determinó el pH de cada tratamiento con la ayuda del equipo potenciométrico, llegando a obtener el menor valor pH 3.88 a 35% de etanol con 0.05% de ácido cítrico y 4.76 de pH a 90% de etanol con 0.03% de ácido cítrico respectivamente, luego con la utilización del equipo espectrofotométrico se determinó la absorbancia de cada muestra a una longitud de onda de 515 nm, llegando a obtener los datos como menor valor 3.25 de absorbancia a 90% de etanol con 0.05% de ácido cítrico y 3.46 de absorbancia a 35% de etanol con 0.03% de ácido cítrico respectivamente. Y por último también se determinaron las coordenadas de color L^* , a^* y b^* . Para lo cual se compararon los valores del colorante extraído de los tallos de yanali a (90 y 35) % y (0.05 y 0.03) % de etanol y ácido cítrico. En donde se observaron que para la luminosidad L^* el mayor valor obtenido es a 35% de etanol con 0.05% de ácido cítrico teniendo como mayor valor positivo de 23.32 y como un menor valor a 90% de etanol con 0.03% de ácido cítrico siendo este valor de 16.62. Resultando ($p < 0.05$) significativo el efecto de etanol y ácido cítrico en las propiedades fisicoquímicas del colorante natural extraído de los tallos de yanali (*Bocconia frutescens*).

Palabras claves: Extracción, absorbancia y variación de color.

Abstract

The objective of the present investigation was to determine the effects of ethanol and citric acid on the physicochemical properties of the dye extracted from the yanali stems (*Bocconia frutescens*). In order to comply with the stated objective, experimental runs were performed using yanali stems, for this extraction process a factorial experimental design of 2^2 was applied, with two factors of percentages of ethanol and citric acid in 2 levels (90 and 35) %, and (0.05 and 0.03) % respectively. To determine the effect of ethanol and citric acid on physicochemical properties such as, pH, absorbance and color variation. The extraction of the dye was carried out by the maceration method in ethanol solution plus the citric acid at a constant temperature of 60 ° C in an oven for 24 hours, once the dyes were extracted, the pH of each treatment was determined with the help potentiometric equipment, reaching the lowest pH value 3.88 to 35% ethanol with 0.05% citric acid and 4.76 pH at 90% ethanol with 0.03% citric acid respectively, then with the use of spectrophotometric equipment was determined the Absorbance of each sample at a wavelength of 515 nm, reaching data such as lower 3.25 absorbance value at 90% ethanol with 0.05% citric acid and 3.46 absorbance at 35% ethanol with 0.03% citric acid respectively. And finally, the color coordinates L^* , a^* and b^* were also determined. For which the values of the dye extracted from the yanali stems were compared to (90 and 35) % and (0.05 and 0.03) % of ethanol and citric acid. Where it was observed that for luminosity L^* the highest value obtained is 35% ethanol with 0.05% citric acid having as a higher positive value of 23.32 and as a lower value at 90% ethanol with 0.03% citric acid being this value of 16.62. Resulting ($p < 0.05$) significant the effect of ethanol and citric acid on the physicochemical properties of the natural dye extracted from the stems of yanali (*Bocconia frutescens*).

Keywords: Extraction, absorbance and color variation

CAPÍTULO 1 INTRODUCCIÓN

Actualmente la industria alimentaria se ha visto sujeta a serios cambios debido a que los consumidores están optando por productos más naturales y en especial sin colorantes sintéticos, a causa de los efectos perjudiciales para la salud humana. Por este motivo el sector agroindustrial invierte muchos esfuerzos y medios en la búsqueda de nuevas alternativas (**Badui, 1993, p. 127**). Manifiesta que el color de los alimentos viene a ser un atributo que tiene mucho peso dentro del juicio del consumidor, este puede llegar a ser determinante para que un producto comestible sea aceptado o rechazado.

Por lo mencionado anteriormente las nuevas tendencias para colorear los alimentos, ha provocado según (**Badui, 1993, p. 128**). Que en estos últimos años se eliminan del mercado los colorantes rojos sintéticos por considerarlos tóxicos; ocasionando que se incremente la demanda de pigmentos naturales principalmente en los países desarrollados.

Según (**Garzón, 2008, p 216**). Muchos investigadores tienen interés en estos pigmentos antociánicos gracias a sus posibles efectos terapéuticos y benéficos, dentro de los cuales se encuentra los efectos anticancerígenos, antitumorales, antidiabéticos, antioxidante, etc. Estas propiedades han permitido abrir una nueva perspectiva para la obtención de productos coloreados con valor agregado para el consumo humano. En esta investigación se pretende conocer los efectos del porcentaje de etanol y ácido cítrico en las propiedades fisicoquímicas del colorante natural extraído de los tallos de **yanali (*Bocconia frutescens*)**.

Se sabe que la gran mayoría de las plantas como yanali (***Bocconia frutescens***), tienen colorantes naturales, los cuales pueden ser aprovechados tal como demuestran muchas investigaciones principalmente en los países de México Guatemala, Jamaica, etc.

La Región Apurímac tiene diversos pisos ecológicos donde hay diversas especies y tipos de plantas silvestres, uno de estas plantas silvestres es el yanali (***Bocconia frutescens***) ubicado en el Centro Poblado San Miguel de Piscobamba, Distrito de Ocobamba, de Provincia Chincheros, Región Apurímac.

Una vez tomado en cuenta los parámetros y procedimientos a trabajar se extrae la parte filamentosa del tallo de yanali para luego cortarlo en pequeñas virutas y

llevarlo a pesar 50 g para cada muestra o tratamiento, una vez realizada la operación se aplicó la solución de etanol-ácido cítrico a cada una de las muestras en los siguientes porcentajes (35 y 90) % de etanol con (0.03 y 0.05) % de ácido cítrico y posteriormente se llevó a la estufa a una temperatura de 60 °C durante 24 horas. Y por último se procedió a realizar una filtración con papel filtro whatman para obtener los extractos de yanali.

En el ensayo de la preparación de extractos, se planteó como un tratamiento, la extracción de colorante en solución acuosa acidificada con ácido cítrico al 0.05% y 0.03% más la solución de etanol al 35 % y 90 %.

Para esta investigación se ha tomado en cuenta el siguiente problema ¿Cuáles son los efectos de etanol y ácido cítrico en las propiedades fisicoquímicas del colorante extraído de tallos de yanali (*Bocconia frutescens*)?, como objetivo, determinar los efectos de etanol y ácido cítrico en las propiedades fisicoquímicas del colorante extraído de los tallos de yanali (*Bocconia frutescens*), y como objetivos específicos: Determinar los efectos de etanol y ácido cítrico en pH, determinar los efectos de etanol y ácido cítrico en absorbancia y determinar los efectos de etanol y ácido cítrico en colorimetría y se empleó el diseño experimental 2^2 y los datos fueron analizados mediante statgraphics centurión XVI.

CAPÍTULO 2 REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Antecedentes de la investigación.

Los métodos convencionales empleados para la extracción de colorantes naturales implican el uso de solventes ácidos, **(Menéndez, 2008, p.145)**. Sugiere por ejemplo: HCl en metanol, HCl en etanol, cloroformo con acetona, etanol con ácido Acético, metanol con ácido acético, etanol con ácido cítrico.

Para este estudio, en la extracción de los colorantes antociánicos de cada una de las frutas, se utilizó una solución de etanol al 90° de pureza con una concentración de ácido cítrico del 0,03% **(protocolo sugerido por Menéndez, 2008)**.

(Cano, 2011). Se realizó pruebas previas de extracción, con diferentes cantidades de fruta (10 g, 20 g, 30 g, 40 g, 50 g) a las cuales se agregó 100 ml de la solución alcohólica a cada una, a diferentes temperaturas (25°C, 50°C, 60°C, 70°C), después de la extracción, determinamos la absorbancia para determinar el mejor método de extracción de antocianinas, y por consiguientes los parámetros de trabajo. La mejor temperatura fue a 60°C para las tres frutas mientras que en la cantidad de materia prima para la mora y tomate la mejor fue de 50 g con estas cantidades obtuvieron un buen rendimiento.

Los rendimientos menores se obtienen al utilizar las soluciones de etanol al 70% y 95% en las tres presentaciones de semilla de aguacate y el mayor rendimiento se obtiene al utilizar la solución de etanol al 35%. Al realizar el tamizaje fitoquímico de los extractos colorantes líquidos de la semilla de aguacate en todas sus presentaciones, se identificó la presencia de taninos y flavonoides.

En el Centro de Investigaciones de extracción a nivel de laboratorio de aceite esencial crudo de pericón (*Tangentes lucida*), y utilización del desecho sólido para la extracción del colorante natural, para su uso en el teñido de fibras naturales. Los solventes utilizados fueron: acetona, metanol, etanol, además se utilizaron reacciones coloridas, para identificar el tipo de colorante, así como cromatografía en capa fina y espectro de absorción. **(García, 2012, p.28)**.

En años recientes se ha renovado el interés en colorantes naturales por recientes limitaciones en el uso de algunos sintéticos en medicamentos debido a su

toxicidad. Son frecuentes las denuncias por el uso de colorantes no adecuados en estos productos de uso humano. Los colorantes naturales son considerados en general como inocuos y consecuentemente las limitaciones específicas en su utilización son menores que las que afectan a los colorantes artificiales **(Ugaz, 1997, p.73)**.

En la actualidad, existe una demanda por parte de los consumidores de reemplazar los colorantes sintéticos por colorantes de origen natural en diversos sectores industriales como la alimentación, cosméticos y farmacia. Esta demanda viene motivada por la existencia de numerosos estudios que indican la potencial toxicidad de los colorantes sintéticos y por el hecho de que el uso de colorantes naturales no presenta problemas de ese tipo **(Bermejo, 2009, p.103)**.

Existen, en el mercado, colorantes naturales y sintéticos. Estos últimos presentan como principales ventajas que proporcionan mayor intensidad de coloración (por lo que se requiere menor cantidad de colorante para obtener el mismo efecto), suministran una mayor gama de colores, son más estables a la luz, pH y temperatura, es más fácil lograr la reproducibilidad de obtención del color deseado y presentan menores probabilidades de interactuar con otros aditivos **(Astiasarán et al., 2003, p.93)**.

Sin embargo, tienen importantes desventajas entre las que hay destacar que los colorantes sintéticos ocasionan, en ciertas personas, gastroenteritis alérgica. También se les ha relacionado con la hiperactividad en niños (Prado-Lobato et al. 2012). Además, y de forma genérica se puede afirmar que la mayoría de los colorantes sintéticos presentan problemas de toxicidad a altas dosis, por lo que su empleo está siendo restringido **(Astiasarán et al., 2003, p.97)**.

La preocupación de los consumidores acerca de la seguridad de los colorantes sintéticos ha aumentado el interés por el uso de colorantes naturales como aditivos **(Gil, 2010, p.64)**. A la hora de seleccionar un colorante surgen preguntas sobre las características tecnológicas, toxicológicas y legales acerca del uso del mismo. Si bien los colorantes sintéticos poseen mejores características funcionales y tecnológicas que los naturales, existe una marcada tendencia hacia el consumo de productos más naturales, libres de compuestos químicos sintéticos y con

potenciales efectos beneficiosos sobre la salud (**Restrepo Gallego, 2007, p.39**). Es por ello que se están desarrollando investigaciones enfocadas a buscar pigmentos coloreados obtenidos de materias primas de origen animal, mineral y fundamentalmente vegetal.

En este sentido, los colorantes naturales son menos tóxicos y menos nocivos para la salud, además tienen un menor impacto sobre el medio ambiente (**Siva, 2007, p.916**). Sin embargo, son más caros, menos potentes y menos estables (**Gil, 2010, p.67**).

Están formados por dos grupos químicos: cromóforo y auxocromo. El cromóforo, usualmente es un anillo aromático y está asociado a la propiedad colorante. Tiene enlaces insaturados como $-C=C$, $=C=O$, $-C-S$, $=C-NH$, $-CH=N$, $-N=N-$ y $-N=O$, cuyo número define la intensidad del color. Los grupos auxocromos son sustituyentes del cromóforo que intensifican la intensidad del color (**Riva, 2007, p.153**).

2.2. Fundamentación científica.

2.2.1. Método para la extracción de los pigmentos.

Los métodos convencionales empleados para la extracción de antocianinas implican el uso de solventes ácidos, (**Menéndez, 2008**) sugiere por ejemplo: HCl en Metanol, HCl en Etanol, Cloroformo con Acetona, Etanol con Ácido Acético, Metanol con Ácido Acético, Etanol con Ácido Cítrico.

Se debe tomar en cuenta que el concentrado final será de grado alimenticio, por este motivo las soluciones como el Metanol y el cloroformo podrían provocar daños irreversibles para la salud o podrían dejar un olor residual como el caso del Ácido Acético y Acetona. (**Menéndez, 2008, p.145**).

Los factores que más inciden en la extracción de los colorantes vegetales son el tipo de solvente, la temperatura de extracción y el tiempo del contacto vegetal con el medio de extracción (**Belitz y Grosch, 1997**).

(**Merida, 2008, p.139**). asesorado por la Ing. Telma Cano, en abril de 2008, en el Centro de Investigaciones de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, realizó el estudio del trabajo de graduación titulado: Extracción y caracterización fisicoquímica del tinte natural obtenido del exocarpo del coco (*cocos nucifera*), como aprovechamiento del desecho de fuentes comerciales. Los solventes utilizados fueron agua, etanol al 50% (v/v) y etanol al

95% (v/v) con 3 repeticiones para cada una, resultando 9 extracciones en total con 3 repeticiones para cada una, resultando 9 extracciones en total.

El tamaño del tratamiento de lixiviación con reflujo fue constante, en función de la relación exocarpo de coco fresco/solvente de 1:10 (w/v), con tiempo de extracción de 6 horas y a temperatura de ebullición de la solución, 94 °C para el agua, 89 °C para el etanol al 50% (v/v) y 77°C para el etanol al 95% (v/v), a presión atmosférica de 640 mmHg. El mayor valor de rendimiento fue de 18,63% utilizando como solvente Etanol 95% y el menor valor de rendimiento fue de 7,63% utilizando como solvente agua.

2.2.2. Aspectos históricos.

Bocconia frutescens (Árbol de amapola) - Un arbusto grande o pequeño árbol que crece de 12 a 18 pies de alto con extraña como varita suave de corteza deriva celebración oblongas pinnado-hendido hojas de color verde grisáceo, con pelos en la superficie inferior, que están congestionados hacia las puntas de las ramas. A finales de primavera y principios del verano aparecen las pequeñas flores verde-púrpura pétalo-menos en densas panículas largas 8-24 pulgadas que son seguidos por las frutas de color gris. Tolerante de la mayoría de cualquier suelo. Crece a pleno sol o sombra moderada y puede ser regada con regularidad o dado poco o ningún riego suplementario en jardines costeros. No frenar resistentes a más de una helada moderada (muy por debajo de congelación), pero se rebrotar desde la base después de la congelación al suelo. Las flores no son vistosas, pero son atractivos para las abejas y el follaje negrita es muy atractivo y la planta útil para una mirada tropical en el fondo del jardín en contra de las plantas de textura más fina. Esta planta muy adaptable es nativa del sur de México a través de Centroamérica a Sudamérica y las Antillas donde crece en los bosques húmedos y secos en muchos tipos de suelo diferentes. En Hawaii, donde fue introducida en la década de 1920, se ha convertido en una maleza invasora agresiva, sobre todo en la isla grande (Hawaii) y Maui, pero no ha demostrado maleza en nuestro clima mediterráneo. Todas las partes de esta planta son venenosas y su savia de látex de color naranja se ha utilizado con fines medicinales en su área de distribución natural y también se utiliza como colorante.

Para inicios del siglo XX el Instituto Médico Nacional la consigna como analgésico. La Sociedad Farmacéutica de México la describe como analgésica local, antiparasitaria, diurético a enfermedades de los ojos y como vulnerario. La misma

Sociedad, años después agregaría que causa irritación dolorosa de la conjuntiva cuando hay padecimientos oculares es tóxico y vasodilatador. **(Correa, 2004, p.109).**

El uso medicinal del ***Bocconia frutescens*** gordolobo abarca diversas afecciones respiratorias como resfriado, tos ferina, ahoguillo (sensación de opresión y fatiga en el pecho que impide respirar con libertad), bronquitis y tuberculosis. Principalmente se le prescribe contra la tos. **(Soto, 2007, p.71).**

2.2.3. La importancia de los alcaloides en la farmacia.

Los alcaloides forman un grupo heterogéneo de principios activos de origen natural que se encuentran fundamentalmente en drogas vegetales. Son sustancias básicas que presentan nitrógeno en su estructura, generalmente formando parte de un anillo heterocíclico. En la naturaleza, suelen encontrarse formando sales y su biosíntesis generalmente es a partir de aminoácidos. Son de gran interés terapéutico puesto que frecuentemente están provistos de actividad farmacológica a baja dosis. **(Bruneton, 2001, p.183).**

Estas prácticas se centrarán en un grupo concreto de alcaloides: los alcaloides tropánicos. Estos alcaloides se encuentran dentro del grupo de los alcaloides derivados de la ornitina y de la lisina. **(Bruneton, 2001, p.187).**

Los alcaloides son compuestos básicos nitrogenados, de estructura compleja y marcada acción farmacológica, presentándose en muy diversas familias de plantas, tales como Solanaceae, Papaveraceae, Apocinaceae, Rubiaceae, Ephedraceae. **(Bruneton, 1991, p.192).**

Los alcaloides pueden encontrarse como bases libres o formando sales, en distintos órganos de la planta (semillas, frutos, hojas, tallos, raíces o rizomas). Las sales son en general solubles en agua, en tanto que las bases libres lo son en solventes orgánicos tales como éter sulfúrico, acetato de etilo, cloroformo **(Bruneton, 1991, p.193).**

Los alcaloides forman sales dobles con compuestos de mercurio, oro, platino, bismuto, iodo. Estas sales dobles suelen obtenerse como precipitados y muchas son características desde el punto de vista cristalográfico. Estos metales forman parte de los llamados reactivos de alcaloides, aunque los precipitados pueden ser causados también por proteínas, betaínas, cumarinas y algunos polifenoles,

generando interferencias en la detección de alcaloides. Dado que la ausencia de precipitado es indicativa de que no hay alcaloides, estos reactivos se utilizan como prueba presuntiva de su presencia. El resultado positivo en cambio, debe ser corroborado mediante la realización de una extracción en medio básica y la repetición de los ensayos en las fracciones purificadas (**Bruneton, 1991, p.192**).

Es preciso tener en cuenta que los reactivos de alcaloides se deben ensayar sobre una fase acuosa ligeramente acidificada. Estas reacciones no se pueden realizar directamente sobre extractos orgánicos, incluyendo extractos alcohólicos, debido a que se redisuelven los precipitados. Por ello se procederá a evaporar el solvente y se retomará el extracto con una solución acuosa acidulada, procediendo luego a efectuar las reacciones (**Bruneton, 1991, p.193**)

2.2.4. Yanali

2.2.4.1. Etimología

Carl Linneo nombró este género en su Species Plantarum en 1753 para honrar el botánico italiano Paolo Boccone (1633-1704). El epíteto específico significa "convertirse arbustiva" de la palabra latina 'frutex' para "arbusto. Otros nombres comunes incluyen la amapola penacho, celidonia árbol, parrotweed, ojo de buey de mar margarita y en Jamaica es conocido ampliamente como John Crow arbusto porque crece en el John Crow Mountains, llamado así por el buitre de Turquía, que a veces se llama John Crow o Carrion Crow. En primer lugar, recibieron esta planta de Gary Hammer y han ofrecido en nuestro vivero desde el año 2002 (**Brako, 1993**).

2.2.4.2. Descripción

Distribución y hábitat. Originaria de América tropical, está presente en climas cálidos, semicálidos y templados entre los 2000 a los 2600 metros, asociada a vegetación perturbada de bosques tropicales caducifolios y perennifolios así como al bosque mesófilo de montaña, bosque de encino y mixto de pino-encino. (**Linares, 2003, p.204**).

Son arbustos a pequeños árboles, que alcanzan un tamaño de hasta 7 m de alto. Hojas extremadamente variables en forma y tamaño, de 15–35 (–60) cm de largo y 10–30 cm de ancho, generalmente profunda e irregularmente lobadas, lobo de ápice obtuso a agudo y márgenes enteros, o ligeramente serrados, haz glabra,

envés pardusco-tomentoso a grisáceo-tomentoso u ocasionalmente glabro, pecíolos 3–6 cm de largo. Las inflorescencias en panículas de 25–60 cm de largo, pedicelos 5–12 mm de largo; sépalos 7–10 mm de largo, acuminados. Cápsulas elipsoides, 5–7 mm de largo, estípites basal 5–8 mm de largo, generalmente recurvado, estilo 3–4 mm de largo, persistente y engrosado; semillas 5–6 mm de largo, café obscuras a negras, lustrosas, superficie menudamente foveolada. (**Conabio, 2009, p.259**).

2.2.4.3. Clasificación taxonómica

Reino: *Plantae*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Orden: *Papaverales*

Familia: *Papaveraceae*

Subfamilia: *Papaveroideae*

Género: *Bocconia frutescens*

Fuente (*Dueñas, 2015*).

2.2.4.4. Composición química

De las hojas *Bocconia frutescens* se han aislado los alcaloides de isoquinolina, columbamina, el tetrahydroderivado, coptisina, isocoripalmina, corisamina, alocriptopina, protopina, norqueleritrina, rocadina, sanguinarina y el nor-derivado. (**Stein, 2001, p.38**).

2.2.4.5. Principales usos y propiedades del yanali

a). Propiedades saludables

En el siglo XVI Martín de la Cruz la cita para la gastritis. "la raíz es de utilidad para las afecciones de la vejiga, heridas internas de niños; para el dolor de cabeza se usan unas gotas en la nariz y molida es empleada para las descomposturas de las manos". Agrega, "la hierba es de utilidad para las paperas e inflamaciones de la garganta, puesta en los párpados es de utilidad para mitigar el dolor de los ojos; para la fiebre, purificar la garganta y pecho se da la raíz por tristel" (vía anal). En

el mismo siglo Francisco Hernández refiere en su obra que "los retoños despojados de su corteza y untados disuelven las cataratas y nubes. El jugo y el fruto quitan la flatulencia, cura los empeines, calma los dolores que provienen de la causa fría; las hojas curan las llagas antiguas, destruyen las verrugas, principalmente las del prepucio y demás partes sexuales; alivia extraordinariamente la tos, calma los dolores agudos de vientre y excita el apetito; provoca las reglas y la orina abre las obstrucciones, cura la parálisis, ayuda a la digestión, corta los humores crasos, y restablece los miembros entumidos de frío". **(Killeen, 1993, p.125).**

b) Usos medicinales

La Sociedad Mexicana de Historia Natural reporta en el siglo XIX reporta los usos medicinales como antiparasitario, atrofia mesentérica, como catártico, deterativo, diurético, para la ictericia, enfermedad de los ojos, como tónico, vulnerario y para las úlceras de mal carácter. **(Breedlove, 1986).**

Para inicios del siglo XX el Instituto Médico Nacional la consigna como analgésico. La Sociedad Farmacéutica de México la describe como analgésica local, antiparasitaria, diurético a enfermedades de los ojos y como vulnerario. La misma Sociedad, años después agregaría que causa irritación dolorosa de la conjuntiva cuando hay padecimientos oculares es tóxico y vasodilatador. **(Correa, 2004, p.102).**

El uso medicinal del ***Bocconia frutescens*** gordolobo abarca diversas afecciones respiratorias como resfriado, tos ferina, ahoguillo (sensación de opresión y fatiga en el pecho que impide respirar con libertad), bronquitis y tuberculosis. Principalmente se le prescribe contra la tos. **(Soto, 2007, p.71).** Se ocupa como remedio el cocimiento de las hojas, administrado por vía oral o en baños para quitar la tos, o las hojas soasadas y colocadas a manera de cataplasma **(Soto, 2007, p.93).** **(*Bocconia frutescens*)**, granos, verrugas, sabañones, callos, irritaciones, manchas en la piel y en heridas. En desórdenes ginecológicos como hemorragia vaginal, se emplea la planta en cocción, administrada por vía oral y para las mujeres después del parto se aconseja la infusión de gordolobo con mirto, hierba del perro y hierba del buho (spp. n/r). Se le emplea también en trastornos del aparato digestivo como disentería, dolor de estómago, úlceras y afecciones del hígado. **(Soto, 2007, p.94).**

c) Otros usos

En hojas y flores se han detectado alcaloides, además de saponinas y triterpenos; en tallos, alcaloides y triterpenos. La presencia de alcaloides, saponinas y triterpenos puede dar indicio de la actividad biológica, ya que los alcaloides presentan tal actividad y las papaveraceae han proporcionado alcaloides antimicrobianos y otros de acción narcotizante. Se conoce que algunas saponinas y triterpenos son activos (**Sánchez, 2000**).

Bocconia frutescens está siendo estudiada ampliamente en medicina humana debido al contenido de alcaloides con propiedades potencialmente explotables para estos fines. De la planta *Bocconia frutescens* se han aislado seis alcaloides: uno resultó ser nuevo, el compuesto BE2, del que se identificó una bencilisoquinolina, (1-[2'-hidroximetileno-3', 4'-metilendioxi-bencilideno]-2-metil-6, 7-dimetoxi-3, 4-tetrahidroisoquinolina); el compuesto BHO resultó ser la cheleritrina; BH1, la 8-hidroxicheleritrina nuevo en la planta-BH3, la dihidromarcapina nuevo en la planta, BC1, la angolina o 8-metoxidihidrocheleritrina; BC2, la nor-sanguinarina-BC3 (también denominado BE1) aislado tanto del extracto clorofórmico como del etanólico fue identificado como la 8-metoxisanguinarina, conocida como N-metilpancorina, nueva en la planta, a este complejo de alcaloides se le ha denominado como Bocconina, al cual se le reconocen propiedades analgésicas semejantes a los de la morfina (**Díaz, 2000**).

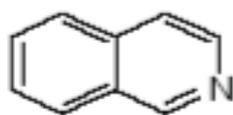
Otros usos medicinales la indican en golpes, reumas, debilidad de niños, delgadez, quemazón de (***Bocconia frutescens***), desinflamatorio, tónico y diaforético y en enfermedades culturales como el susto y como colorantes naturales. (**Soto, 2007, p.94**).

Los numerosos productos aislados de la naturaleza hasta hoy se pueden clasificar de varios modos atendiendo a diferentes criterios: al origen biogenético, las características químicas, la fuente natural de que se obtienen o a su actividad farmacológica. De los distintos grupos que se pueden hacer atendiendo las características químicas uno de los más importantes es el de los alcaloides.

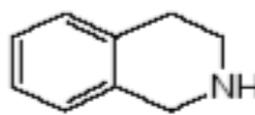
Los alcaloides son compuestos nitrogenados que proceden principalmente de metabolismo secundario de las plantas, aunque también son aislados a partir de mamíferos, peces, microorganismos, etc. La importancia de los alcaloides se debe

tanto a su abundancia y la diversidad estructural que presentan, como a la variedad de rutas biogénicas que los originan y las actividades biológicas que poseen.

Los alcaloides isoquinolínicos constituyen uno de los grupos de alcaloides más importantes en el cual están englobados todos los productos naturales que contienen en su estructura un sistema heterocíclico de tipo isoquinolina.



Isoquinolina



Tetrahidroisoquinolina

Las estructuras que presentan estos alcaloides son muy variadas y según las estructuras que posean conforman distintos grupos: bencilisoquinolinas, protoberberinas, homoprotoberberinas, etc. Por otra parte, las isoindolobenzazepinas aunque no incorporan una unidad isoquinolínica en su estructura, se les consideran pertenecientes al grupo de los alcaloides isoquinolínicos por su posible conexión biogénica con éstos (**Rodríguez, 1998, p.204**).

2.2.5. 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 pigmentos hidrosolubles, las antocianinas han demostrado ser muy lábiles en medio ácido, hidrolizándose rápidamente.

En el caso de las betalaínas, al ser ionizables en medio ácido, sufren cambios de color tanto a un pH por debajo de 3.5 pero no se hidrolizan por lo cual se pueden utilizar para alimentos ácidos. Su máxima estabilidad está entre pH 5 y 6. Un requisito evidente de un colorante es su estabilidad a largo plazo, debiendo resistir no sólo los procesos industriales a los cuales están sometidos los alimentos como a las condiciones de pH e interacción con otros componentes de los alimentos en los cuales se encuentra. (**Downham, A. y Collins, 2000, p.84**). El pH tiene efecto en la estructura y la estabilidad de las antocianinas. La acidez tiene un efecto protector sobre la molécula. En soluciones acuosas a valores de pH inferiores a dos, básicamente 100% del pigmento se encuentra en su forma más estable o de

ión oxonio o catión flavilio (AH⁺) de color rojo intenso. A valores de pH más altos ocurre una pérdida del protón y adición de agua en la posición 2, dando lugar a un equilibrio entre la pseudobase carbinol o hemiacetal (B) y la forma chalcona (C), o de cadena abierta. Tanto el hemiacetal como la chalcona, son formas incoloras y bastante inestables. A valores de pH superiores a siete se presentan las formas quinoidales (A, A⁻) de color púrpura que se degradan rápidamente por oxidación con el aire (*Hutchings, 1999 p.73*).

2.2.6. Absorbancia.

La espectrofotometría de absorción es usualmente usada con moléculas disueltas en un solvente transparente. La absorbancia de un soluto depende linealmente de la concentración y por consiguiente la espectrofotometría de absorción es ideal para hacer mediciones cuantitativas. La longitud de absorción y la fuerza de absorbancia de una molécula no sólo depende de la naturaleza química, si no del ambiente molecular en donde se encuentre el cromóforo. La espectrofotometría de absorción es por lo tanto una excelente técnica para seguir reacciones de unión a ligando, catálisis enzimáticas y transiciones (*Arenas y López, 2004, p.46*).

La absorbancia (A) es un concepto más relacionado con la muestra puesto que nos indica la cantidad de luz absorbida por la misma, y se define como el logaritmo de 1/T, en consecuencia: $A = \log 1/T = -\log T = -\log I_t/I_o$. Cuando la intensidad incidente y transmitida son iguales ($I_o = I_t$), la transmitancia es del 100% e indica que la muestra no absorbe a una determinada longitud de onda, y entonces A vale $\log 1 = 0$.

La cantidad de luz absorbida dependerá de la distancia que atraviesa la luz a través de la solución del cromóforo y de la concentración de éste.

La intensidad de luz que golpea el detector cuando una solución “blanco” está presente en la cubeta se le da el símbolo de “I₀”. El blanco es una solución que contiene todas las especies químicas que estarán presentes en los estándares y en las muestras que serán medidas (a los mismos niveles de concentración), excepto por la especie analítica. Una solución de este tipo no debe mostrar absorción y por lo tanto I₀ representa la intensidad máxima que puede golpear al detector en cualquier momento. Cuando el blanco es reemplazado por una solución del analito, se detectará un haz de luz menos intenso. La intensidad de la luz para esta solución es denotada por el símbolo “I” Por lo tanto, la fracción de

luz transmitida es I/I0. Esta fracción es definida como la “transmitancia” “T”. Entonces la absorbancia es un parámetro que aumenta linealmente con la concentración, por lo tanto es importante para el análisis cuantitativo (**Kenkel, 1992, p.358**).

2.2.7. Variación de color

El color es una de las principales características de calidad de los alimentos y la principal característica perceptible por el consumidor. Varios pigmentos presentes en los alimentos se correlacionan con el contenido en compuestos bioactivos tales como compuestos fenólicos, carotenoides, betalanas y vitaminas. Han revelado en varios estudios que su consumo diario promueve la salud de los seres humanos mediante la reducción de los niveles de colesterol, esclerosis coronaria, factores de riesgo cardiovascular, entre otros efectos benéfico (**Santana, V., Gurak, P., marczak, L y Tessaro, L., 2013**).

El color se describe en términos de valor, que es de claridad u oscuridad de un color, o la cantidad relativa de blanco o negro de un tono. Si el blanco es agregado como incremento a cualquiera de los colores, obtendremos valores más claros del tono, llamados tintes. El incremento de gris en un tono da por resultado valores más oscuros de tono, conocidos como matices(**Blume, 1994, p.19**).

El espacio de color L* a* b* (también referido como CIELAB) es uno de los espacios de color más usados para medir la composición cromática de un objeto y es ampliamente utilizado en todos los campos. En el espacio L* a* b*, la diferencia del color puede ser expresada en un valor numérico Δ E*ab, el cual indica la magnitud entre dos colores, pero no indica la saturación, el tono y la luminosidad; el ΔE*ab está definido por la ecuación 1, usando la ecuación 2.

$$\Delta E_{ab} = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \dots\dots\dots Ec. (1)$$

Donde:

ΔL*, Δa*, Δb*: Es la entre L*, a*, b* de la diferencia y L*, a*, b* de comparación

$$\Delta H_{ab} = \sqrt{(\Delta E^*)^2 + (\Delta L^*)^2 - (\Delta C^*)^2} \dots\dots\dots Ec. (2)$$

La diferencia en el Angulo de tono °h_{ab} entre el color observado y el de referencia puede ser correlacionada con diferencias visuales del tono percibido. La

diferencia de saturación $\Delta C^*_{ab}([C^*_{ab}]_{observado} - [C^*_{ab}]_{referencia})$ puede ser relacionada con diferencias de saturación percibida visualmente. La medida de color C^* y del Angulo de tono h se definen por las formulas 3 y 4 norma (D2244-02)

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \dots\dots\dots Ec. (3)$$

$$h = \tan^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \dots\dots\dots Ec. (4)$$

La diferencia de tono es positiva si el Angulo h del observado es mayor al de referencia y es negativa si el Angulo h del observado es menor a la referencia.

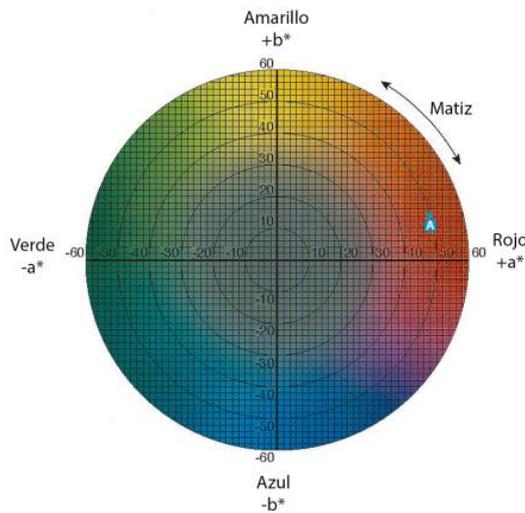


Figura 1. Representación en el plano horizontal del espacio de color $L^* a^* b^*$
 Fuente: (Konica Minolta Sensing ,2007).

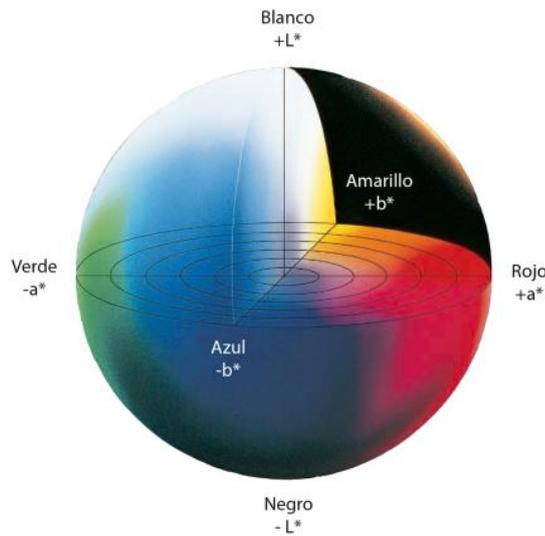


Figura 2. Representación tridimensional del espacio de color $L^* a^* b^*$

Fuente: (Konica Minolta Sensing ,2007).

En el espacio $L^* a^* b^*$, la diferencia del color puede ser expresada en un valor numérico ΔE^*_{ab} , el cual indica la magnitud entre dos colores, pero no indica la saturación, el tono y la luminosidad; el ΔE^*_{ab} está definido por la ecuación (5), en la figura (3) se explica mejor este concepto; para analizar la diferencia total en la luminosidad, la saturación y el tono entre dos colores, es útil calcular la medida del tono entre el color de referencia y el observado usando la ecuación (6)

$$\Delta E^*_{ab} = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (\text{Ec. 5})$$

Donde ΔL^* , Δa^* , Δb^* : es la diferencia entre $L^* a^* b^*$ de la referencia y $L^* a^* b^*$ de comparación.

$$\Delta H^*_{ab} = \sqrt{(\Delta E^*)^2 - (\Delta L^*)^2 - (\Delta C^*)^2} \quad (\text{Ec. 6})$$

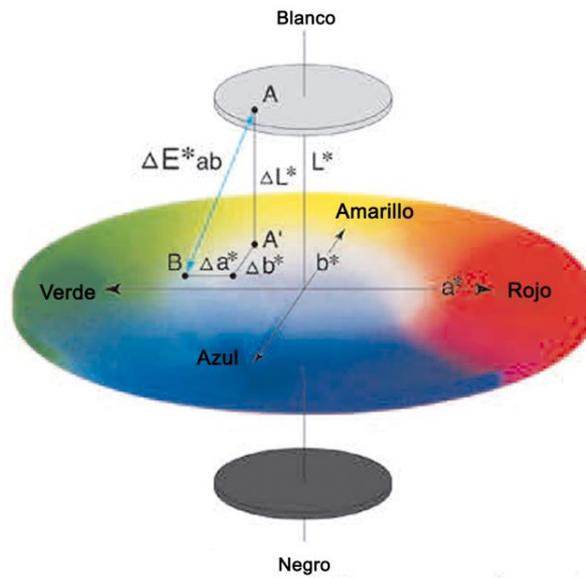


Figura 3. Diferencia del color en el espacio $L^* a^* b^*$

Fuente: (Konica Minolta Sensing ,2007).

La diferencia en el ángulo de tono ΔH^*_{ab} entre el color observado y el de referencia puede ser correlacionada con diferencias visuales del tono percibido. La diferencia de saturación $\Delta^{\circ} C^*_{ab}$ ($[C^*_{ab}]_{observado} - [C^*_{ab}]_{referencia}$) puede ser relacionado con diferencias de saturación percibido visualmente. La medida de color C^* y del ángulo de tono h se definen por las ecuaciones (7) y (8) (ASTM). En la figura (04) se puede apreciar el concepto.

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (\text{Ec. 7})$$

$$h = \tan^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right), (\text{grados}) \quad (\text{Ec. 8})$$

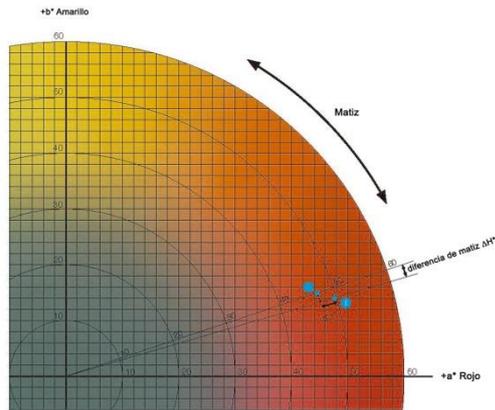


Figura 4. Diagrama de cromaticidad

Fuente: (Konica Minolta Sensing ,2007)

La diferencia de tono es positiva si el ángulo h del observado es mayor al de referencia y es negativa si el ángulo h del observado es menor a la referencia (Konica, 2007).

CAPÍTULO 3 MATERIALES Y METODOLOGÍA.

3.1. Materiales de investigación.

3.1.1. Equipos de investigación.

Tabla 1: Descripción de equipos que fueron utilizados en la investigación.

CANT.	NOMBRE	DESCRIPCIÓN	MARCA
01	Estufa con temporizador	De color plateado, material de acero inoxidable y con accesorios de plástico.	MENMERT
01	Balanza analítica	Equipo electrónico con capacidad de 100 g y sensibilidad 0.0001g.	OHAUS AVENTURER
01	Espectrofotómetro	Equipo electrónico, de cubetas de cristal.	GENESYS
01	pH metro	Instrumento digital	HANNA
01	Colorímetro	Mide la variación de color basándose en el espacio a, b y L	MINOLTA

3.1.2. Material vegetal

Tabla 2: Materia vegetal utilizado como muestra para la investigación.

CANTIDAD	UNIDAD	DESCRIPCIÓN	ORIGEN
5	Kg	Yanali (<i>Bocconia frutescens</i>) abusto perennifolio	Recolección en Centro Poblado San Miguel de Piscobamba Distrito de Ocobamba, Provincia de Chincheros, Región Apurímac

3.1.3. Materiales no vegetales.

Tabla 3: Descripción de materiales de laboratorio que fueron utilizados en la investigación.

CANT.	NOMBRE	DESCRIPCION	MARCA
12	Matraces	Material de vidrio pírex transparente de capacidad 100 ml	kintel
02	Pizeta	Material de plástico de capacidad 200 ml	
12	Pipeta	Material de vidrio transparente de capacidad 100 ml	
02	Probeta	Material de vidrio transparente de capacidad 100ml	Fortuna
02	Bagueta		
06	Papel toalla		
12	Papel filtro.	589/2 (Watman -40). Ø 11 cm	
01	Rotulador	De tinta negra	Faber-castell
12	Embudo de vidrio		Fortuna

3.1.4. Reactivos e insumos

Tabla 4: Descripción de Reactivos e insumos que fueron utilizados en la investigación.

CANT.	NOMBRE	MARCA
1 litro	Agua destilada	
1litro	Etanol	Mi farma
5g	Ácido cítrico	Scharlau

3.2. Metodología de investigación.

3.2.1. Localidad e institución donde se desarrolla el proyecto.

a) Localidad

La presente investigación se realizó en el barrio de Santa Rosa del distrito de Talavera, Provincia de Andahuaylas, Departamento de Apurímac.

b) Institución Las pruebas experimentales se realizaron en el laboratorio de química, de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional José María Arguedas (UNAJMA), Apurímac - Andahuaylas.

3.2.2. Material de estudio

Para la investigación se recolectó el tallo de yanali (*Bocconia frutescens*) 5 kg del bosque de San Miguel de Piscobamba del Distrito de Ocobamba, Provincia de Chincheros de la Región Apurímac, en el mes de noviembre del año 2016, La altitud de vegetación promedia entre los 2800 a 3000 m.s.n.m. a temperatura que fluctúa entre 10 °C y 25 °C.

Los tallos de yanali (*Bocconia frutescens*) fueron cortados en pequeñas dimensiones, para extraer el colorante a una temperatura constante de 60°C, a los % de etanol (90 y 35) % y % de ácido cítrico de (0.03 y 0.05) % donde se evaluaron los efectos de sus propiedades fisicoquímicas tales como: pH, absorbancia y variación de color colorimetría CIELAB ($a^*b^*L^*$).

3.2.3. Universo y/o población

El universo de estudio fue todos los árboles de yanali de la vegetación del bosque de San Miguel de Piscobamba del distrito de Ocobamba, provincia de Chincheros, región Apurímac, para este estudio se utilizaron solamente los tallos de yanali.

3.2.4. Muestra

La muestra fue adquirida de la zona de San Miguel de Piscobamba, Distrito de Ocobamba, Provincia de Chincheros, Departamento de Apurímac. Por ser esta la zona donde se encuentra la vegetación de yanali (*Bocconia frutescens*). Y la técnica de muestreo fue: Muestreo no probabilístico determinístico, la muestra a utilizarse fue de 5 Kg de corteza.

3.2.5. Unidad de Análisis

Se desarrolló una investigación experimental usando un diseño factorial de 2^2 de acuerdo a las siguientes variables de estudio (pH, Absorbancia y Variación de color), donde se consideraron como variable de entrada los porcentajes de etanol (90 y 35) % y los porcentajes de ácido cítrico de (0.03 y 0.05) %. Para ello se consideraron 4 tratamientos con 3 repeticiones por tratamiento en total 12

tratamientos para este análisis. Cada unidad experimental será 200 g del filamento del tallo de yanali.

3.2.6. Metodología para la extracción del colorante natural.

a) Recolección de los tallos de yanali (*Bocconia frutescens*).

Se recolectaron 05 kg de tallos de yanali (*Bocconia frutescens*) en horas de la mañana con la característica: tallo maduro, y sano, para ello se realizó un muestreo al azar, se procedió al corte del tallo escogido para luego ser troceado y se transportó con un taxi desde el Centro Poblado de San Miguel de Piscobamba, distrito de Ocobamba, hasta la sede Santa Rosa de la Universidad Nacional José María Arguedas ubicado en el Distrito de Talavera de la Provincia de Andahuaylas, posteriormente se llevó al laboratorio de química.

b) Acondicionamiento de los tallos de yanali (*Bocconia frutescens*).

Los tallos de yanali fueron seleccionados, para sacar la parte filamentososa de la corteza del tallo, con la ayuda de un cuchillo se logró extraer la parte filamentososa del tallo de yanali dejando listo para el siguiente proceso.

c) Picado.

Con la ayuda de un cuchillo de acero inoxidable y una tabla de picar plastificada se procedió a picar el filamento obtenido, dejando como resultado en pequeñas virutas con una medida aproximada de 1 cm^2

d) Pesado.

Se realizó el pesado de 50 g en una balanza analítica para cada muestra de las virutas filamentosas de yanali, luego se llevó cada muestra pesada a introducir en cada solución de alcohol más ácido cítrico preparados en un matraz en los porcentajes de (90 y 35) % y (0.05 y 0.03) %.

c) Maceración.

El matraz con contenido de solución más las virutas de yanali llenas hasta las tres cuartas partes de un matraz de 100 ml son llevados a la estufa a una temperatura de 60 °C por un tiempo de 24 horas de macerado.

d) Filtrado.

Después de la maceración en la estufa, se llevó a filtrar con la utilización de embudos de material de vidrio y papel nitrocelulosa a un recipiente matraz de boca angosta.

Diagrama de flujo.

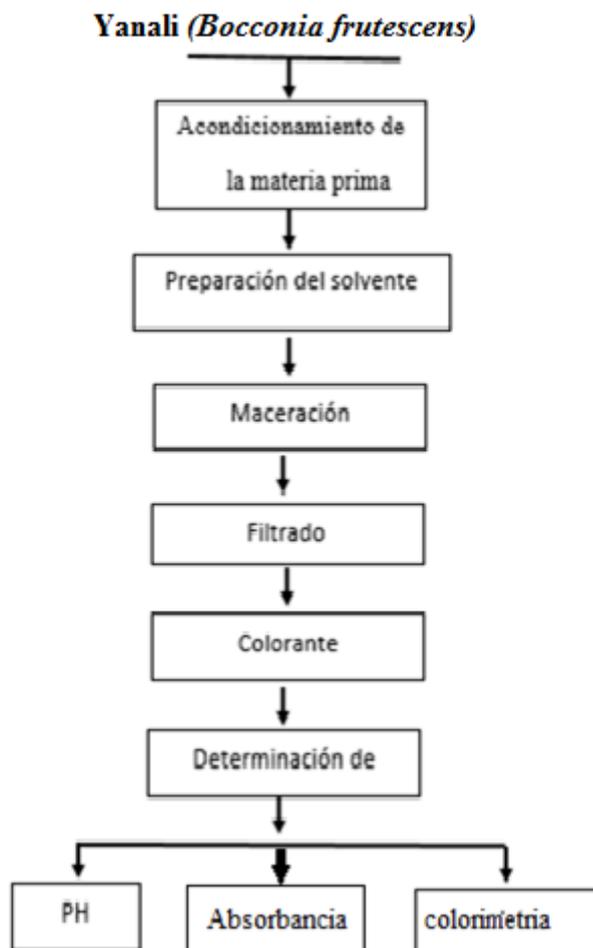


Figura 5. Diagrama de flujo utilizado en la investigación.

3.2.7. Método para la determinación de pH.

Las muestras una vez filtradas se llevan a medir el pH, con la ayuda de un equipo de pH metro digital de marca Hanna a cada muestra para obtener los datos requeridos.

3.2.8. Metodología para la determinación de la absorbancia.

Para la determinación de absorbancia a una longitud de onda de 515 nm esta onda se tomó por una referencia de investigación de extracción y caracterización del colorante natural del maíz negro (*Zea mays* L.) y determinación de su actividad antioxidante, realizado en el año 2004 donde se utiliza los 515 nm de onda obteniendo un alto rendimiento de absorción el cual también concuerda con el autor (*Wrolstad, 2004, p.34*). Y (*Vasco et al., 2009, p.57*). Para ello se utilizó el

equipo espectrofotómetro de marca Genesys, para este proceso primero se calibró el equipo con una cubeta cristal transparente conteniendo agua destilada, luego utilizó las cubetas con el contenido del colorante extraído, esta operación se hizo para cada muestra, de esta manera se obtuvo los datos de absorbancia.

3.2.9. Método para la evaluación de la variación de color.

Se determinó las coordenadas de color en el espacio CIELAB ($L^*a^*b^*$) del colorante extraído de los tallos de yanali a diferentes porcentajes de alcohol más el ácido cítrico para lo cual se utilizó el colorímetro KONICA MINOLTA modelo CR-400 calibrado en una cerámica blanca. Con los datos obtenidos se evaluó la luminosidad, las coordenadas de color a^* b^* y L los cuales fueron evaluadas estadísticamente aplicando ANOVA para verificar el efecto del porcentaje de alcohol más el ácido cítrico. Para determinar las diferencias de color se siguió lo expuesto.

3.2.10. Metodología del análisis estadístico

a) Análisis estadístico

Se analizaron las variables de salida con statgraphics de un diseño factorial de 2^2 , en donde se consideraron como factores los porcentajes de alcohol y ácido cítrico de (90 y 35) % y (0.05 y 0.03) %, mientras que variables de respuestas serán el pH, la absorbancia y la variación de color CIELAB (a^* , b^* , L^*).

b) Análisis de varianza

Se aplicara ANOVA de dos factores (alcohol y ácido cítrico de (90 y 35) % y (0.05 y 0.03) %) y se plantea la siguiente hipótesis estadística para ANOVA (*Gutiérrez, y De la Vara, 2008*).

H₀: Los efectos de etanol y ácido cítrico no son significativos en las propiedades fisicoquímicas del colorante extraído de los tallos de yanali (*Bocconia frutescens*).

H_a: Los efectos de etanol y ácido cítrico son significativos en las propiedades fisicoquímicas del colorante extraído de los tallos de yanali (*Bocconia frutescens*).

Tabla. 5 ANOVA, utilizado en la investigación.

FV	SC	GL	CM	F_0	Valor - p
A	SC_A	1	CM_A	CM_A/CM_E	$P(F > F_0)$
B	SC_B	1	CM_B	CM_B/CM_E	$P(F > F_0)$
AB	SC_{AB}	1	CM_{AB}	CM_{AB}/CM_E	$P(F > F_0)$
Error	SC_E	$4(n - 1)$	CM_E		
Total	SC_T	$n2^2 - 1$			

(Gutiérrez, y De la Vara, 2008, p.173).

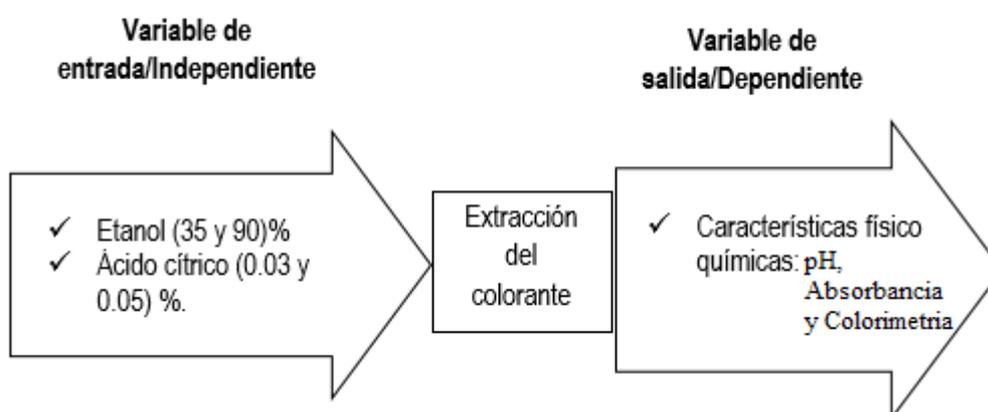


Figura 6. Diseño de contrastación que se utilizó para la investigación.

c). prueba de hipótesis.

H_0 : Efecto de A = 0

H_A : Efecto de A \neq 0

H_0 : Efecto de B = 0

H_A : Efecto de B \neq 0

H_0 : Efecto de AB = 0

H_A : Efecto de AB \neq 0

(Gutiérrez, y De la Vara, 2008).

CAPITULO 4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.1. Resultados de investigación.

4.1.1. Resultados de la determinación de pH.

En la tabla 6 se muestran los resultados obtenidos para el pH en las cuatro concentraciones de los % de etanol, más el ácido cítrico (35, 90) % y (0.03, 0,05) % respectivamente. Se puede observar que se tiene un resultado de mayor pH, a un menor porcentaje de ácido cítrico con un mayor porcentaje de etanol, en este caso con el 0.03% de ácido cítrico más el 90% de etanol y lo contrario sucede con los porcentajes de 0.05% de ácido cítrico más el 35% etanol, donde el resultado para el valor de pH es menor.

Tabla 6: Resultados para los valores de pH.

Tratamiento	% Ácido cítrico	% Etanol	pH	
			promedio	Desviación estándar
1	0.03	35	4.01	0.0305505
2	0.05	35	3.89	0.01527525
3	0.03	90	4.75	0.01
4	0.05	90	4.69	0.01527525

Gráfica de Efectos Principales para PH

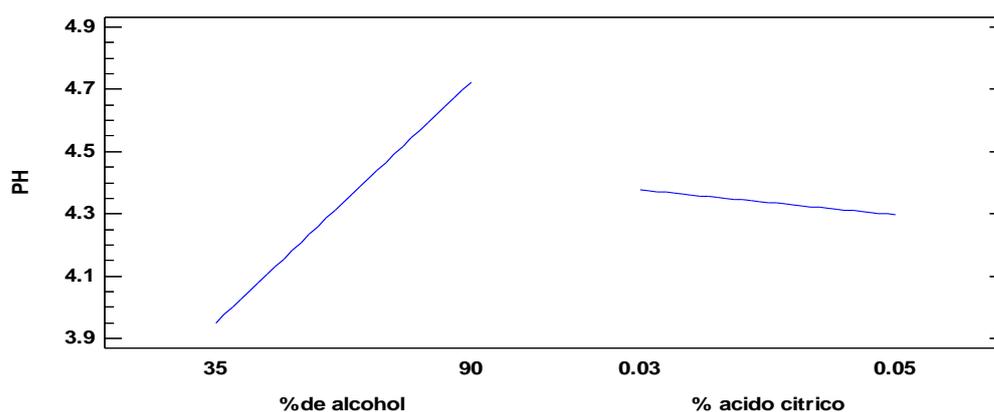


Figura 7. Efectos principales para pH.

Tal como se puede ver, en la figura 7 de los efectos principales el más influyente en el pH, es el porcentaje de etanol con una clara diferencia a los porcentajes de ácido cítrico, además se observa que cuanto mayor es el porcentaje de etanol mayor es el valor de pH, lo contrario sucede con los porcentajes de ácido cítrico, cuanto menor es el porcentaje mayor es el valor de pH.

Según el autor (**Downham, A. y Collins, 2000, p.84**) y (**Jiménez, Aparicio et al, 1997**). La máxima estabilidad de los colorantes naturales es a pH 5 y 6, tomando en cuenta esta fuente de información, se tiene el mejor resultado que se ajusta a estos intervalos de pH a un porcentaje de etanol a 90% con 0.03% de ácido cítrico teniendo como resultado 4.75 de pH tal como se muestra en la tabla 6, que es un resultado más próximo a los intervalos recomendados, también se puede observar en la figura 6 de los efectos principales que cuanto mayor es el porcentaje de etanol mayor es el valor de pH, y lo contrario sucede con los porcentajes de ácido cítrico cuanto menor es el porcentaje de ácido cítrico mayor es el valor de pH, Siendo el $p - \text{value} < \alpha$ (0.05) hay efectos significativos de etanol y ácido cítrico en las propiedades fisicoquímicas del colorante natural extraído de los tallos de yanali (***Bocconia frutescens***).

Los colorantes naturales, al ser ionizables en medio ácido, sufren cambios de color tanto a un pH por debajo de 3.5 pero no se hidrolizan por lo cual se pueden utilizar para alimentos ácidos. Su máxima estabilidad está entre pH 5 y 6. Un requisito evidente de un colorante es su estabilidad a largo plazo, debiendo resistir no sólo los procesos industriales a los cuales están sometidos los alimentos como a las condiciones de pH e interacción con otros componentes de los alimentos en los cuales se encuentra. (**Downham, A. y Collins, 2000, p.118**).

Los valores de pH de 4 a 6 son favorables para la estabilidad de los colorantes incluso cuando estos sufren tratamientos térmicos. (**Jiménez, Aparicio et al, 1997, p.43**).

En la tesis para la obtención del título de ingeniería agroindustrial titulado **extracción y caracterización del colorante natural del maíz negro (*zea mays L.*) y determinación de su actividad antioxidante**. El extracto colorante de los granos, presenta mayor estabilidad (menor índice de degradación del color) a valores de pH 4 y 6.

4.1.2. Resultados de absorbancia.

En la tabla 7 se muestran los resultados obtenidos para la absorbancia, en las cuatro concentraciones del % de etanol más el % de ácido cítrico (35, 90) % y (0.03, 0,05) %respectivamente. Se puede observar que se tiene un resultado de mayor absorbancia, a un menor porcentaje de ácido cítrico con un menor porcentaje de etanol, estamos hablando en este caso del 0.03% de ácido cítrico más el 35% de etanol y lo contrario sucede a los porcentajes de 0.05% de ácido cítrico más el 90% etanol, la absorbancia es mucho menor.

Tabla 7: Resultados para los valores de absorbancia.

Tratamiento	% Ácido cítrico	% Etanol	Absorbancia	
			Promedio	Desviación estándar
1	0.03	35	3.46	0.00152753
2	0.05	35	3.33	0.00152753
3	0.03	90	3.27	0.00152753
4	0.05	90	3.25	0.001527525

Gráfica de Efectos Principales para ABSORBANCIA

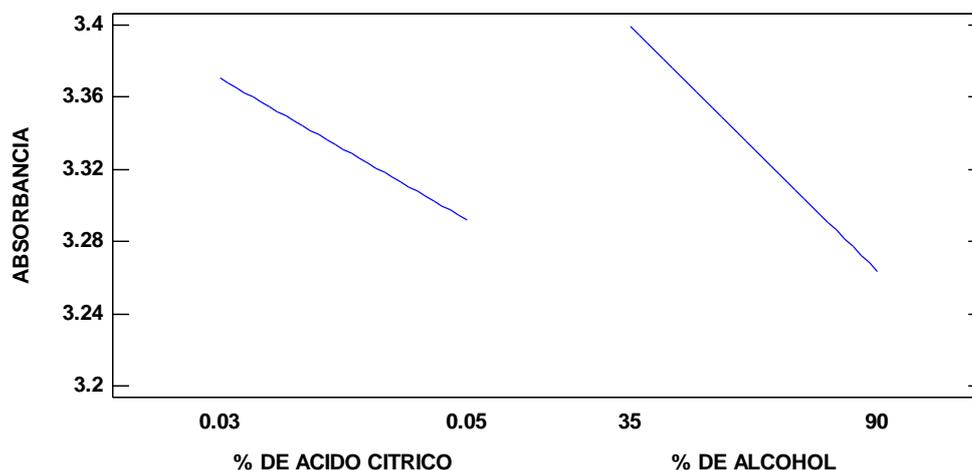


Figura 8. Efectos principales para Absorbancia.

En la figura 8 de efectos principales para la absorbancia se puede observar claramente a cuanto menor es el porcentaje de ácido cítrico es mayor la

absorbancia, del mismo modo sucede con los porcentajes de etanol, cuanto menor es el porcentaje del etanol es mayor la absorbancia llegando a una absorbancia de 3.46, además se puede deducir que el porcentaje de etanol es el más influyente que los porcentajes del ácido cítrico en los efectos para la absorbancia del colorante natural de yanali.

El extracto colorante de maíz negro se encontró un máximo de absorción de 515 nm lo que presume que el mismo contiene antocianinas lo que concuerda con **(Wrolstad, 2004)**, que indica que las antocianinas tienen una banda de absorción entre 490 y 550 nm de región de espectro visible.

Según **(Vasco et al, 2009)**, las antocianinas del tipo de las cianidinas tienen un rango máximo de absorción de 516 a 520 nm, lo que nos permite decir que las antocianinas mayoritarias en el extracto colorante de maíz negro son las cianidinas, posiblemente la cianidina 3- β glucósido, que concuerda con **(Aoki et al., 2002, p.107)**.

Según la investigación de la Universidad de Antioquia, de la carrera de Ingeniería de Alimentos en el Laboratorio de Análisis Instrumental se determinaron los colorantes en Bebidas, dirigido por el Profesor: Lucas Blandón donde se obtuvieron los siguientes resultados en cuanto a la absorbancia.

Los puntos máximos para absorbancia de ambas muestras entre 510 y 520 nm, por lo que se selecciona una $\lambda = 515$ nm como longitud de onda óptima para la elaboración de la curva de calibración.

Permite concluir que el colorante utilizado en el laboratorio es el responsable de la coloración típica de la bebida gaseosa de marca comercial analizada ya que ambos presentan espectros semejantes, con mínimos y máximos que coinciden para las mismas longitudes de onda.

Es la razón por el cual se elige la longitud de onda de 515 nm para esta investigación donde obtuvimos como el mejor resultado para la absorbancia de 3.46 con el porcentaje de 35% de etanol con 0.03% de ácido cítrico tal como se muestra en la tabla 7 y en la figura 7 de los efectos principales donde se observa que cuanto menor es el porcentaje de ácido cítrico es mayor la absorbancia, lo mismo sucede con el porcentaje de etanol, Siendo el p – evalúe $< \alpha$ (0.05) hay efectos significativos de etanol y ácido cítrico en las propiedades fisicoquímicas del colorante natural extraído de los tallos de yanali **(Bocconia frutescens)**.

4.1.3. Resultados de la evaluación la variación de color.

El color de los tallos yanali a cada tratamiento se determinó en coordenadas CIELAB (L^* , a^* y b^*) con el colorímetro KONICA MINOLTA modelo R-400 los datos obtenidos se muestran en la tabla 8.

Tabla 8: Resultados para los valores de CIELAB.

Tratamiento	% Ácido cítrico	% Etanol	Colorimetría CIELAB					
			Promedio			Desviación estándar		
			a^*	b^*	L^*	a^*	b^*	L^*
1	0.03	35	9.48	4.72	16.73	0.05	0.09	0.07
2	0.05	35	28.23	18.19	23.32	0.07	0.06	0.11
3	0.03	90	1.72	-2.23	16.62	0.01	0.02	0.09
4	0.05	90	1.44	-1.17	17.23	0.07	0.05	0.08

Las coordenadas de color en escala CIELAB tiene valores de a^* que va de rojo ($+a^*$) a verde ($-a^*$), para b^* varia de amarillo ($+b^*$) a azul ($-b^*$) y el valor de L^* es de 0 (negro) a 100 (blanco).

Gráfica de Efectos Principales para a^*

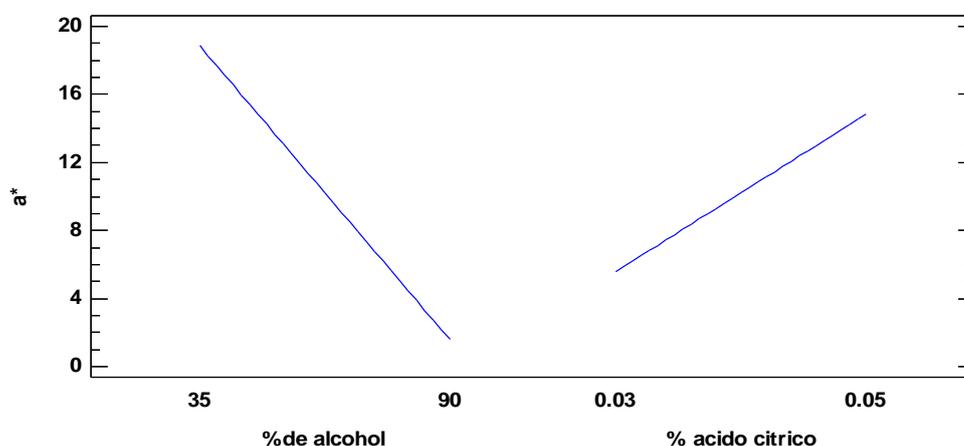


Figura 9. Efectos principales para a^* .

En la figura 9 de efectos principales para a^* se puede observar claramente que cuanto mayor es el porcentaje ácido cítrico es mayor el valor positivo para a^* en

el porcentaje de 0.05% de ácido cítrico y menor positivo en el 0.03% de ácido cítrico, con los porcentajes de etanol sucede que, cuanto menor es el porcentaje del etanol, es mayor el valor positivo de a^* , además se puede deducir que el porcentaje etanol es el más influyente que los porcentajes del ácido cítrico en los efectos para la coordenada a^* del colorante natural de yanali.

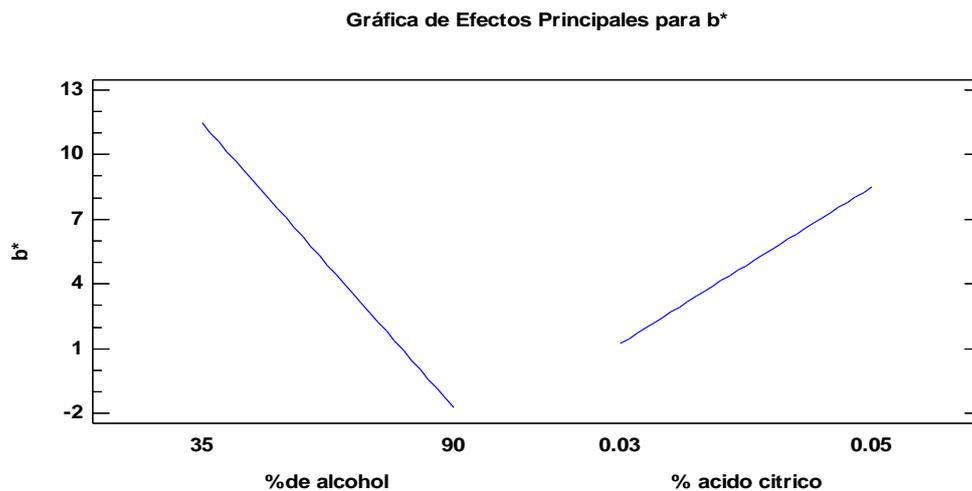


Figura 10. Efectos principales para b^* .

En la figura 10 de efectos principales para b^* se puede observar claramente que cuanto es mayor el porcentaje de ácido cítrico es mayor el valor positivo para b^* en el porcentaje de 0.05% de ácido cítrico y menor en el 0.03% de ácido cítrico, con los porcentajes de etanol sucede que, cuanto menor es el porcentaje del etanol, es mayor valor positivo de b^* , además se puede deducir que el porcentaje etanol es el más influyente que los porcentajes del ácido cítrico en los efectos para la coordenada b^* del colorante natural de yanali.

Gráfica de Efectos Principales para L*

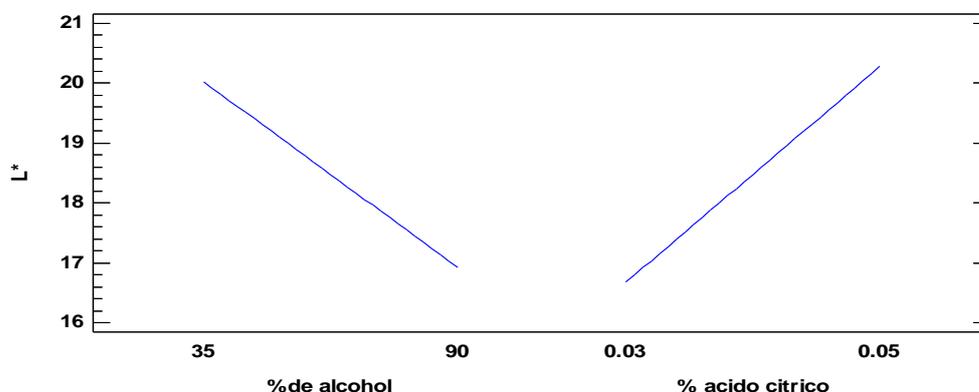


Figura 11. Efectos principales para L*.

En la figura 11 de efectos principales para L* se puede observar claramente que cuando los porcentajes de ácido cítrico son mayores se consigue un mayor valor positivo para L* en el porcentaje de 0.05% de ácido cítrico y menor en el 0.03% de ácido cítrico, con los porcentajes de etanol sucede que, cuanto menor es el porcentaje del etanol, es mayor el valor positivo de L*, además se puede deducir que en ambos porcentajes como el etanol y ácido cítrico son influyentes en los efectos para la coordenada L* del colorante natural de yanali.

En la tesis titulado extracción de colorante natural de maíz negro, el parámetro a* de los extractos de granos, presentó el mayor valor tonalidad roja (7.74) con el tratamiento T2 (extracción con agua durante 2 horas a 40 °C).

En cuanto al parámetro b*, todos los tratamientos permitieron obtener extractos de tonalidad azul (b-).

El valor del parámetro (L*) muestra que los extractos del grano obtenidos con el tratamiento presentaron, un valor de 23.06

Las coordenadas de color en escala CIELAB tiene valores de a* que va de rojo (+a*) a verde (-a*), para b* varia de amarillo (+b*) a azul (-b*) y el valor de L* es de 0 (negro) a 100 (blanco).

La luminosidad (L*), el parámetro a*y b*, con respecto a los resultados de la luminosidad se tuvo un resultado con mayor luminosidad a 35% de etanol con 0.05% de ácido cítrico dando un mayor valor positivo de 23.32 se puede decir que es inversamente proporcional al porcentaje de etanol y directamente proporcional

al porcentaje de ácido cítrico. Igualmente para el parámetro de color a^* se concluye que se tuvo un resultado con mayor valor positivo a 35% de etanol con 0.05% de ácido cítrico dando un mayor valor positivo de 28.23 se puede decir que es inversamente proporcional al porcentaje de etanol y directamente proporcional al porcentaje de ácido cítrico esto indica que el color de esta muestra tiende a ser a un color rojo. Y para el parámetro b^* se concluye que se tuvo un resultado con mayor valor positivo a 35% de etanol con 0.05% de ácido cítrico dando un mayor valor positivo de 18.19 se puede decir que es inversamente proporcional al porcentaje de etanol y directamente proporcional al porcentaje de ácido cítrico esto indica que el color de esta muestra tiende a ser a un color amarillo. Todo los resultados indican que el mejor efecto para la variación de color en la prueba colorimétrica es 35% de etanol con 0.05% de ácido cítrico dando como resultados un color con mayor luminosidad, Siendo el $p - \text{evalúe} < \alpha$ (0.05) hay efectos significativos de etanol y ácido cítrico en las propiedades fisicoquímicas del colorante natural extraído de los tallos de yanali (***Bocconia frutescens***).

El color se describe en términos de valor, que es de claridad u oscuridad de un color, o la cantidad relativa de blanco o negro de un tono. Si el blanco es agregado como incremento a cualquiera de los colores, obtendremos valores más claros del tono, llamados tintes. El incremento de gris en un tono da por resultado valores más oscuros de tono, conocidos como matices (***Belitz, H y Grosch, W. 1997, p.169***).

Aplicar sistemas colorimétricos de espacio uniforme (CIELAB, CIELUV), fue de gran utilidad en la caracterización de las propiedades del color de los extractos crudos aislados de los tallos de yanali, Se ha mostrado la relevancia del pH y el tiempo de almacenamiento sobre la relación estructura química y color. El conocimiento sobre la estabilidad del color aquí generado es un aporte valioso para el establecimiento de las condiciones de procesamiento de la fruta, teniendo en cuenta que ocurren transformaciones apreciables se deben utilizar mecanismos que inhiban la pérdida de color. Uno de los sistemas para medir este atributo es el CIELAB, en el que se define un espacio en coordenadas rectangulares (L^* , a^* , b^*) junto con otro en coordenadas cilíndricas (L^* , H^* , C^*), (***Jiménez y Gutiérrez, 2001; Calvo y Duran, 2002***)

Este sistema tiene base en la teoría en la apreciación de los colores opuestos, esta dice que un color no puede ser amarillo y azul al mismo tiempo ni tampoco puede ser roja y verde, **(Iñiguez; et al 1995, p.236)**

CONCLUSIONES

- En conclusión se determinó cuanto mayor sean los porcentajes de etanol y menor el porcentaje de ácido cítrico hay un mayor efecto en los resultados para pH.
- En conclusión se determinó que cuanto menor sean los porcentajes de etanol y ácido cítrico hay un mayor efecto para los resultados de la absorbancia.
- Para la evaluación en los resultados de la colorimetría para coordenada a^* se pudo determinar, que el porcentaje de etanol es la más influyente en el valor para la coordenada a^* cuanto menor es el porcentaje de etanol con un mayor porcentaje de ácido cítrico hay un mayor efecto para la coordenada a^* , que mide la saturación del color que va desde un verde hasta un rojo intenso. Lo propio es para la coordenada b^* el que tiene efecto es el porcentaje de etanol que mide también la saturación del color desde un azul hasta un amarillo. Igualmente para el valor de la coordenada L^* que mide la luminosidad el efecto más influyente es el etanol.

RECOMENDACIONES

- Utilizar otros métodos de extracción del colorante natural para yanali, así poder comparar y determinar el método de extracción más eficientes y económicas.
- Probar otros solventes de extracción para el colorante natural de yanali.
- Determinar las propiedades fisicoquímicas del colorante natural extraído de yanali utilizando el equipo HPLC.
- Obtener el extracto colorante de yanali, para evaluar rendimientos y calidad de los mismos.
- Aplicar los extractos colorantes obtenidos de yanali en el proceso de tinción de fibras naturales.
- Realizar la extracción del colorante de yanali utilizando el método soxhlet.

SUGERENCIAS

- Determinar las propiedades farmacéuticas del colorante natural extraído de los tallos de yanali.
- Se recomienda realizar más investigaciones relacionados al uso de colorantes naturales en la industria alimentaria y no alimentaria ya que el interés de consumir alimentos más sanos y utilizar los colorantes naturales están en auge.
- Realizar estudios clínicos y toxicológicos adecuados para colorantes previo a su utilización en la farmacéutica.
- Realizar pruebas específicas de identificación para flavonoides y alcaloides, como las técnicas espectroscópicas ultravioleta, resonancia magnética nuclear de protones, resonancia magnética Nuclear de carbono 13 y espectrometría de masas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aoki, H., Kuze, N. y Kato, y. et al., (2002). Anthocyanins isolated from purple corn (*Zea mays L*), Foods and Food ingredients of Japan. p. 107.
- Arena, I., López, J. (2004). Espectrofotometría de absorción. Cuernavaca, México. p. 46.
- Astiasarán A. (2003). Alimentos y nutrición en la práctica sanitaria. Madrid: Ediciones Díaz de Santos, España. P. 93.
- Badui, S. (1988). Química de los alimentos, editorial alhambra, México. P. 128.
- Badui, D. (1993). Química de los alimentos. Addison Wesley Longman de México. P. 127.
- Belitz, H. y Grosch, W. (1997). Química de los alimentos, editorial acribia, segunda edición, Zaragoza España.
- Bermejo. (2009). Alimentacion equipos y tecnologia, España. P. 103.
- Brako. (1993). Catalogue of the Flowering Plants and Gymnosperms, Peru.
- Breedlove. (1986). Flora de Chiapas, México.
- Bruneton. (2001). Plantas medicinales, España.
- Bruneton, J. (1991). "*Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia*", Editorial Acribia, España. p. 159-175.
- Downham, A. Collins, P. (2000). Colouring our foods in the last and next millennium. International Journal of Food Science and Technology.
- Downham, A. y Collins. (2000). thermal stability of pomegranate juice.
- Calvo y Duran, (2002) Optica y color temas en tecnología de alimentos, vol. 1, instituto politécnico nacional, Mexico.
- Centeno, M. (2003). Extracción, estabilización y evaluaciones analíticas del carmín centro de investigaciones en ciencia aplicada y tecnología avanzada, instituto politécnico nacional, Mexico.
- Conabio. (2009). Catálogo taxonómico de especies, México.
- Correa, et al. (2004). Smithsonian Tropical Research Institute, Panama. P. 109.

- Del Carpio et al. (2009). Caracterización de las antocianinas de los frutos de berberís boliviana lechler, facultad de ciencias químicas, universidad de San Antonio Abad del Cusco, Perú.
- Delgado et al. (2003). Natural colorants for Food and nutraceutical uses.
- Fennema, (2000). Química de los alimentos, editorial acribia S.A. segunda edición, Zaragoza España.
- Garzón, G. (2008). Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos. Bogota, Colombia. Universidad Nacional de Colombia.
- Gil, A. Tratado de nutrición, (2010). 2a ed. Madrid: Médica Panamericana.
- Gutiérrez, y De la Vara. (2008). análisis y diseño de experimentos. México. P. 67.
- Hutchings, J. (1999). Food Color and Appearance. 2nd ed. Gaithersburg.
- Jiménez y Gutiérrez, (2001). Métodos para medir propiedades e industriales de alimentos 2da edición, editorial Acribia, España.
- Jiménez, Aparicio et al, (1997). Estabilidad fisicoquímico de la betanina, mexico.
- Iñiguez, et al (1995). Estudio del color de los vinos tintos, estación enológica de haro la rioja, España. P. 236.
- Konica Minolta Sensing (2007), Inc.: Color control from perception to instrumentation.
- Kenkel, J. (1992). Analytical Chemistry refresher manual. Chelsea, Lewis Publishers. 358 p.
- Killeen. (1993). Herbario Nacional de Bolivia & Missouri Botanical Garden. Bolivia. P. 125.
- Linares. (2003). Listado comentado de los árboles nativos. El Salvador.
- Menéndez, W. (2008). Obtención de Colorante para Su Uso en Yogurt a Partir de la Flor De Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) y del Mortiño (*Vaccinium mytillus L.*)".(en línea).Guayaquil, Ecuador. P. 209.
- Menéndez. (2008). Obtención de Colorante. Ecuador: Guayaquil. P. 145.
- Mérida. (2008).Extracción y caracterización fisicoquímica de tinte natural. Guatemala. P. 139.

- Restrepo Gallego M. (2007). Sustitución de colorantes en alimentos. Revista Lasallista de Investigación, p 35-39.
- Riva R. (2007). Status of natural dyes and dye-yielding plants in India. Current science.
- Rodríguez, I. G. (1998). Ciclación radicalarias na síntese de macrociclos nitrogenados: aplicaciones á síntese de alcaloides. Síntese á análogos de antibióticos enodíinicos. Universidad Santiago de Compostela. España.
- Sánchez, E. (2000). Farmacognosia y aspectos fotoquímicos de Gordolobo (*Bocconia frutescens* L.). Sociedad Botánica de México. Iztacala. México.
- Soto. (2007). Papaveraceae Manual de Plantas de Costa Rica. Costa Rica. P. 71.
- Siva R. (2007). Status of natural dyes and dye-yielding plants in India. Current Science, p 916-925
- Stein. (2001). Papaveraceae En Stevens Montiel Flora. Nicaragua. P. 38.
- Ugaz. (1997). Colorantes naturales del Perú. Perú. P. 73
- Wrolstad, R. (2004). Anthocyanins pigments – bioactivity and coloring properties Journal of Food Science.
- <http://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/950/1/1802.pdf>

ANEXOS

ANEXO 1. IMAGENES DE LA PLANTA DE YANALI (*Bocconia frutescens*)

FOTOGRAFÍA 01: EL ARBOL YANALI



FOTOGRAFÍA 02: TALLO DE YANALI



ANEXO 2: IMÁGENES DE PROCESO DE EXTRACCIÓN DEL COLORANTE DE LOS TALLOS DE YANALI (*Bocconia frutescens*) A LOS PORCENTAJES DE ÁCIDO CÍTRICO (0.03 Y 0.05) % CON (35 Y 90) % DE ETANOL A UNA TEMPERATURA DE 60°C POR 24 HORAS.

FOTOGRAFÍA 03: SOLUCIONES DE ETANOL MÁS EL ÁCIDO CÍTRICO



FOTOGRAFÍA 05: FILTRADO



FOTOGRAFÍA 04: MACERACIÓN EN ESTUFA A 60°C POR 24 HORAS



FOTOGRAFÍA 06: COLORANTE EXTRAÍDO DE YANALI



NEXO 3: IMÁGENES DE PROCESO DE DETERMINACIÓN DE pH DEL COLORANTE DE LOS TALLOS DE YANALI (*Bocconia frutescens*) A LOS PORCENTAJES DE ÁCIDO CÍTRICO Y ETANOL (0.03 Y 0.05) % CON (35 Y 90) % RESPECTIVAMENTE DE A UNA TEMPERATURA DE 60°C POR 24 HORAS.

FOTOGRAFÍA 07: CALIBRACION DEL POTENCIOMETRO

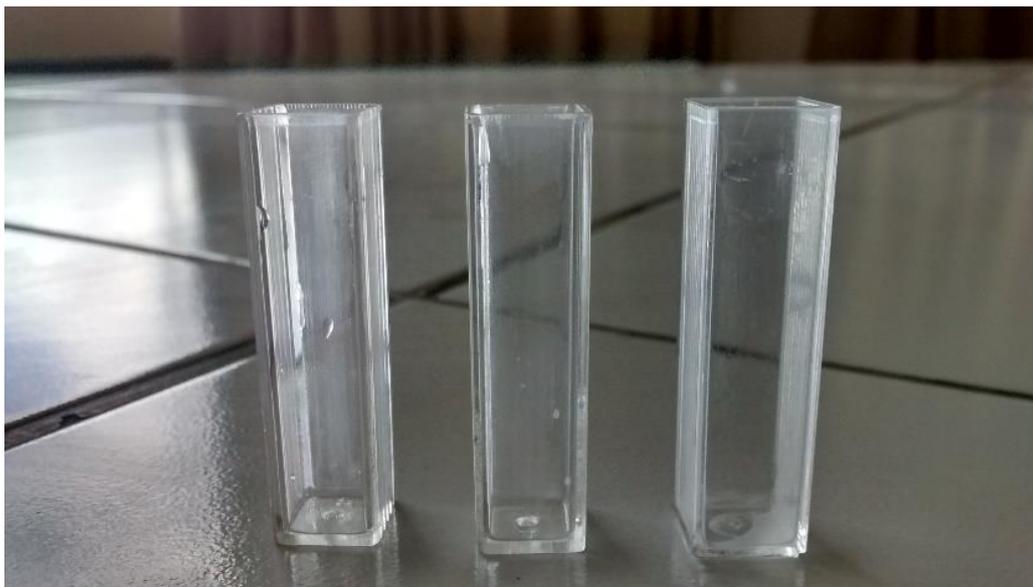


FOTOGRAFÍA 08: DETERMINACIÓN DE PH



ANEXO 4: IMÁGENES DEL PROCESO DE DETERMINACIÓN DE ABSORBANCIA DEL COLORANTE DE LOS TALLOS DE YANALI (*Bocconia frutescens*) A LOS PORCENTAJES DE ÁCIDO CÍTRICO Y ETANOL (0.03 Y 0.05) % CON (35 Y 90) % RESPECTIVAMENTE A UNA TEMPERATURA DE 60°C POR 24 HORAS.

FOTOGRAFÍA 09: CUBETAS DEL EQUIPO ESPECTROFOTOMÉTRICO



FOTOGRAFÍA 10: DETERMINACIÓN DE ABSORBANCIA



ANEXO 5: IMÁGENES DE LOS PROCESOS DE DETERMINACIÓN DE COLORIMETRIA DEL COLORANTE DE LOS TALLOS DE YANALI (*Bocconia frutescens*) A LOS PORCENTAJES DE ÁCIDO CÍTRICO Y ETANOL (0.03 Y 0.05) % CON (35 Y 90) RESPECTIVAMENTE A UNA TEMPERATURA DE 60°C POR 24 HORAS.

FOTOGRAFÍA 11: EQUIPO COLORIMETRICO



FOTOGRAFÍA 12: DETERMINACIÓN COLORIMÉTRICA



ANEXO 6: CUADRO DE RESULTADOS PARA pH, ABOSORBANCIA Y PARÁMETROS DE COLOR L*, A* Y B* EN EL EFECTO DE ETANOL Y ÁCIDO CÍTRICO EN LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DEL COLORANTE EXTRAÍDO DE LOS TALLOS DE YANALI (*Bocconia frutescens*).

Tabla 9: Resultados para los valores de pH.

<i>Tratamiento</i>	<i>% Ácido cítrico</i>	<i>% Etanol</i>	<i>pH</i>
1	0.03	35	4.01
2	0.05	35	3.9
3	0.03	90	4.76
4	0.05	90	4.71
1	0.03	35	3.97
2	0.05	35	3.88
3	0.03	90	4.74
4	0.05	90	4.68
1	0.03	35	4.03
2	0.05	35	3.91
3	0.03	90	4.75
4	0.05	90	4.7

Tabla 10: Resultados para los valores de absorbancia.

TRATAMIENTO	% ÁCIDO CÍTRICO	% ETANOL	ABSORBANCIA
1	0.03	35	3.463
2	0.05	35	3.334
3	0.03	90	3.278
4	0.05	90	3.252
1	0.03	35	3.464
2	0.05	35	3.332
3	0.03	90	3.277
4	0.05	90	3.249
1	0.03	35	3.466
2	0.05	35	3.335
3	0.03	90	3.275
4	0.05	90	3.25

Tabla 11: Resultados para los valores de CIELAB.

<i>Tratamiento</i>	<i>% Ácido cítrico</i>	<i>% Etanol</i>	<i>Colorimetría CIELAB</i>		
			a*	b*	L*
1	0.03	35	9.48	4.71	16.72
2	0.05	35	28.23	18.19	23.32
3	0.03	90	1.72	-2.24	16.62
4	0.05	90	1.44	-1.16	17.24
1	0.03	35	9.43	4.64	16.67
2	0.05	35	28.31	18.14	23.21
3	0.03	90	1.71	-2.26	16.71
4	0.05	90	1.52	-1.24	17.15
1	0.03	35	9.53	4.83	16.81
2	0.05	35	28.17	18.26	23.43
3	0.03	90	1.74	-2.29	16.53
4	0.05	90	1.37	-1.13	17.32

ANEXO 7: RESULTADOS DEL ANÁLISIS ANOVA PARA pH, ABOSORBANCIA Y PARÁMETROS DE COLOR L*, a* Y b* EN EL EFECTO DE ETANOL Y ÁCIDO CÍTRICO EN LAS PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS DEL COLORANTE EXTRAÍDO DE LOS TALLOS DE YANALI (*Bocconia frutescens*).

ANOVA unidireccional para la luminosidad L*.

Tabla 12: ANOVA unidireccional: L* vs porcentajes de etanol y ácido cítrico.

Análisis de Varianza para L*

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
A:%de alcohol	28.799	1	28.799	3484.92	0.0000
B:% ácido cítrico	38.916	1	38.916	4709.16	0.0000
AB	26.7307	1	26.7307	3234.64	0.0000
Error total	0.0495833	6	0.00826389		
Total (corr.)	94.5106	11			

R-cuadrada = 99.9475 por ciento

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 99.9038 por ciento

Error estándar del est. = 0.0909059

Error absoluto medio = 0.0463889

Estadístico Durbin-Watson = 3.07587 (P=0.9177)

Autocorrelación residual de Lag 1 = -0.581723

El StatAdvisor

La tabla ANOVA particiona la variabilidad de L* en piezas separadas para cada uno de los efectos. Entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 3 efectos tienen un valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 99.9475% de la variabilidad en L*. El estadístico R-cuadrada ajustada, que es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 99.9038%. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar de los residuos es 0.0909059. El error medio absoluto (MAE) de 0.0463889 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si haya alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentan los datos en el archivo. Puesto que el valor-P es mayor que 5.0%, no hay indicación de autocorrelación serial en los residuos con un nivel de significancia del 5.0%.

Tabla 13: ANOVA unidireccional: b* vs porcentajes de etanol y ácido cítrico.

Análisis de Varianza para b*

Fuente	Suma de Cuadrados	de Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:%de alcohol	521.269	1	521.269	217952.20	0.0000
B:% ácido cítrico	158.922	1	158.922	66448.39	0.0000
AB	115.01	1	115.01	48087.89	0.0000
Error total	0.01435	6	0.00239167		
Total (corr.)	795.235	11			

R-cuadrada = 99.9982 por ciento

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 99.9967 por ciento

Error estándar del est. = 0.0489047

Error absoluto medio = 0.0265278

Estadístico Durbin-Watson = 2.22053 (P=0.4516)

Autocorrelación residual de Lag 1 = -0.135066

El StatAdvisor

La tabla ANOVA particiona la variabilidad de b* en piezas separadas para cada uno de los efectos. Entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En

este caso, 3 efectos tienen un valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 99.9982% de la variabilidad en b*. El estadístico R-cuadrada ajustada, que es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 99.9967%. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar de los residuos es 0.0489047. El error medio absoluto (MAE) de 0.0265278 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si haya alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentan los datos en el archivo. Puesto que el valor-P es mayor que 5.0%, no hay indicación de autocorrelación serial en los residuos con un nivel de significancia del 5.0%.

Tabla 14: ANOVA unidireccional: a* vs porcentajes de etanol y ácido cítrico.

Análisis de Varianza para a*

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:%de alcohol	895.277	1	895.277	230214.0 5	0.0000
B:% ácido cítrico	256.04	1	256.04	65838.96	0.0000
AB	271.796	1	271.796	69890.40	0.0000
Error total	0.0233333	6	0.00388889		
Total (corr.)	1423.14	11			

R-cuadrada = 99.9984 por ciento

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 99.997 por ciento

Error estándar del est. = 0.062361

Error absoluto medio = 0.0355556

Estadístico Durbin-Watson = 2.86631 (P=0.8367)

Autocorrelación residual de Lag 1 = -0.483452

El StatAdvisor

La tabla ANOVA particiona la variabilidad de a* en piezas separadas para cada uno de los efectos. Entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En

este caso, 3 efectos tienen un valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 99.9984% de la variabilidad en a^* . El estadístico R-cuadrada ajustada, que es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 99.997%. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar de los residuos es 0.062361. El error medio absoluto (MAE) de 0.0355556 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si haya alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentan los datos en el archivo. Puesto que el valor-P es mayor que 5.0%, no hay indicación de autocorrelación serial en los residuos con un nivel de significancia del 5.0%.

Tabla 15: ANOVA unidireccional: absorbancia* vs porcentajes de etanol y ácido cítrico.

Análisis de Varianza para Absorbancia

Fuente	Suma de Cuadrados	de Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:%de alcohol	0.0550808	1	0.0550808	21790.19	0.0000
B:% ácido cítrico	0.0184868	1	0.0184868	7313.44	0.0000
AB	0.00816408	1	0.00816408	3229.75	0.0000
Error total	0.0000151667	6	0.0000025277		
Total (corr.)	0.0817502	11			

R-cuadrada = 99.9814 por ciento

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 99.966 por ciento

Error estándar del est. = 0.0015899

Error absoluto medio = 0.001

Estadístico Durbin-Watson = 2.53526 (P=0.6543)

Autocorrelación residual de Lag 1 = -0.417125

El StatAdvisor

La tabla ANOVA particiona la variabilidad de ABSORBANCIA en piezas separadas para cada uno de los efectos. Entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 3 efectos tienen un valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 99.9814% de la variabilidad en ABSORBANCIA. El estadístico R-cuadrada ajustada, que es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 99.966%. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar de los residuos es 0.0015899. El error medio absoluto (MAE) de 0.001 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si haya alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentan los datos en el archivo. Puesto que el valor-P es mayor que 5.0%, no hay indicación de autocorrelación serial en los residuos con un nivel de significancia del 5.0%.

Tabla 16: ANOVA unidireccional: pH* vs porcentajes de etanol y ácido cítrico.

Análisis de Varianza para PH

Fuente	Suma de Cuadrados	de Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:%de alcohol	1.79413	1	1.79413	13742.30	0.0000
B:% ácido cítrico	0.0192	1	0.0192	147.06	0.0000
AB	0.00213333	1	0.00213333	16.34	0.0068
Error total	0.000783333	6	0.000130556		
Total (corr.)	1.81847	11			

R-cuadrada = 99.9569 por ciento

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 99.921 por ciento

Error estándar del est. = 0.0114261

Error absoluto medio = 0.00652778

Estadístico Durbin-Watson = 1.86613 (P=0.2444)

Autocorrelación residual de Lag 1 = 0.0611702

El StatAdvisor

La tabla ANOVA particiona la variabilidad de pH en piezas separadas para cada uno de los efectos. Entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 4 efectos tienen un valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 99.9569% de la variabilidad en PH. El estadístico R-cuadrada ajustada, que es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 99.921%. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar de los residuos es 0.0114261. El error medio absoluto (MAE) de 0.00652778 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si haya alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentan los datos en el archivo. Puesto que el valor-P es mayor que 5.0%, no hay indicación de autocorrelación serial en los residuos con un nivel de significancia del 5.0%.

ANEXO 8: Certificado de resultados de la clasificación botánica de yanali (*Bocconia frutescens*)

"Año de la Diversificación Productiva y del Fortalecimiento de la Educación"

CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN DE ESPECIMENES VEGETALES

El que suscribe, **M.Sc. Blgo. HERNANDO HUGO DUEÑAS LINARES**, especialista en identificación taxonómica de especímenes y productos de flora y fauna silvestre con Certificado de Inscripción N° 028, Registro de Personas Naturales y Jurídicas Habilitadas para realizar Certificación de identificación Taxonómica de Especímenes y Productos de Flora y Fauna Silvestre; en el Ministerio de Agricultura, Dirección General de Forestal y Fauna Silvestre, Intendencia Forestal y de Fauna Silvestre.

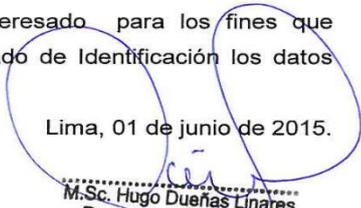
CERTIFICA, que los especímenes (05) presentado por el señor Bachiller **NILBER PÉREZ PALOMINO**, de la *Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional José María Arguedas*, para su identificación y/o determinación de la tesis de Investigación intitulada: "**Influencia de los porcentajes de alcohol y temperatura en la extracción y caracterización del colorante natural presente en los tallos del Yanali, Andahuaylas-2015.**", corresponden a los siguientes taxa aceptado oficialmente:

✓ *Bocconia frutescens* L. Familia **PAPAVERACEAE**

De acuerdo a la descripción de sus características vegetativas y reproductivas, las que están registrada para la Flora de Perú: Departamento de Apurímac; en el Catálogo de Angiospermas y Gimnospermas del Perú de Lois Brako and James L. Zarucchi (1993), al APG III (Angiosperm Phylogenetic Group, 2010) y al Taxonomic Name Resolution Service v3.0 (2015), y The Plant List: "A Working List of all Plant Species" (2015)

Se expide el presente certificado a solicitud del interesado para los fines que considere conveniente. Se anexa al presente Certificado de Identificación los datos correspondientes a la especie en formato Excel.

Lima, 01 de junio de 2015.


M.Sc. Hugo Dueñas Linares
Reg. N° 028 DGFES-MA
Espec. Ident. Taxonómica
de Flora

IDENTIFICACION TAXONOMICA DE ESPECIMENES VEGETALES

TESIS DE INVESTIGACIÓN 2015

"Influencia de los porcentajes de alcohol y temperatura en la extracción y caracterización del colorante natural en los tallos del Yanali, Andahuaylas-2015"

BACHILLER: Nilber Pérez Palomino

Nº	NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE COMÚN	FAMILIA	HABITO	HABITAT	LOCALIDAD	Colector	Fecha Colección	ID	FECHA ID
1	<i>Bocconia frutescens</i> L.	"Yanali"	PAPAVERACEAE	Arbusto	Bosque terraza alta	Ocobamba, San Miguel de Piscobamba, Apurímac	Nilber Pérez Palomino	20/09/2014	HDL	01/06/2015

Lima, 01 de junio de 2015

M.Sc. Hugo Dueñas Linares
Especialista en ID taxonómica de Flora

M.Sc. Hugo Dueñas Linares
Reg. Nº 028 DGFFS-MA
Espec. Ident. Taxonómica de Flora