



UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA
FACULTAD DE INGENIERÍA DE PROCESOS
INDUSTRIALES
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS



"EFECTO DE LOS PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS EN LA
EXTRACCIÓN Y LA CUANTIFICACION DE BETALAÍNAS
DE LA QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd.) VARIEDAD
INIA 420-NEGRA COLLANA POR EL
MÉTODO SOXHLET"

Karla Yazireth Uribe Meza

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

Asesor: M.Sc. Julio Rumualdo Gallegos Ramos

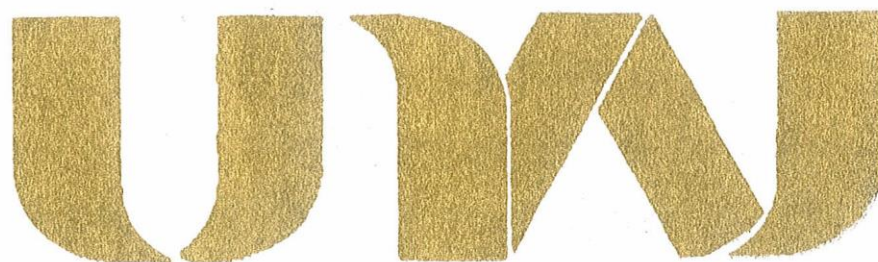
Co-Asesora: D.Sc. Olivia Magaly Luque Vilca



Juliaca - 2022



UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA
FACULTAD DE INGENIERÍA DE PROCESOS
INDUSTRIALES
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS



**"EFECTO DE LOS PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS EN LA
EXTRACCIÓN Y LA CUANTIFICACION DE BETALAÍNAS
DE LA QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd.) VARIEDAD
INIA 420-NEGRA COLLANA POR EL
MÉTODO SOXHLET"**

Karla Yazireth Uribe Meza

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

Asesor: M.Sc. Julio Rumualdo Gallegos Ramos

Co-Asesora: D.Sc. Olivia Magaly Luque Vilca



Juliaca - 2022

UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA

FACULTAD DE INGENIERÍA DE PROCESOS

INDUSTRIALES

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN

INDUSTRIAS ALIMENTARIAS



**“EFECTO DE LOS PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS EN LA
EXTRACCIÓN Y LA CUANTIFICACION DE BETALAÍNAS
DE LA QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd.) VARIEDAD
INIA 420-NEGRA COLLANA POR EL
MÉTODO SOXHLET”**

Karla Yazireth Uribe Meza

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

Asesor: M.Sc. Julio Rumualdo Gallegos Ramos

Co-Asesora: D.Sc. Olivia Magaly Luque Vilca

Juliaca, 2022

FICHA CATALOGRÁFICA

Uribe, K. (2022). *Efecto de los parámetros fisicoquímicos en la extracción y la cuantificación de betalaínas de la quinua (Chenopodium quinoa Willd.) variedad INIA 420-Negra Collana por el método Soxhlet.* (Tesis de ingeniería). Universidad Nacional de Juliaca. Juliaca.

AUTOR: Karla Yazireth Uribe Meza

TÍTULO: Efecto de los parámetros fisicoquímicos en la extracción y la cuantificación de betalaínas de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) variedad INIA 420-Negra Collana por el método Soxhlet.

PUBLICACIÓN: Juliaca, 2022

DESCRIPCIÓN: Cantidad de páginas (93 pp)

NOTA: Tesis de la Escuela profesional de Ingeniería en Industrias alimentarias — Universidad Nacional de Juliaca.

CÓDIGO: 03-000018-03/U77

NOTA: Incluye bibliografía.

ASESOR: M.Sc. Julio Gallegos Romualdo Ramos

CO-ASESORA: D. Sc. Olivia Magaly Luque Vilca

PALABRAS CLAVE:

Quinua negra, betalaínas, método Soxhlet, CIElab, colorímetro.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA
FACULTAD DE INGENIERIA DE PROCESOS INDUSTRIALES
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA EN INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS

**“EFECTO DE LOS PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS EN LA
EXTRACCIÓN Y LA CUANTIFICACIÓN DE BETALAÍNAS
DE LA QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd.) VARIEDAD
INIA 420-NEGRA COLLANA POR
EL MÉTODO SOXHLET”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

Presentado por:

Karla Yazireth Uribe Meza

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Mg. Carlos Ricardo Hanco Cervantes



PRESIDENTE DE JURADO

D.Sc. Ruben Wilfredo Jilapa Humpiri



JURADO (secretario)

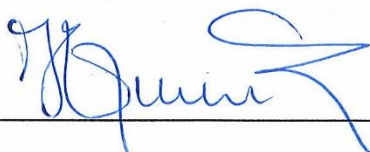
2° MIEMBRO

M.Sc. Ciro William Taipe Huamán



JURADO (Vocal)

3° MIEMBRO



M.Sc. Julio Rumualdo Gallegos Ramos
ASESOR DE TESIS



D.Sc. Olivia Magaly Luque Vilca
Co- ASESORA DE TESIS

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado principalmente Dios, por darme salud y fuerzas para continuar en este proceso, a mis padres, por ser mi inspiración y mi mayor impulso, por ser las personas más importantes de mi vida, pero sobre todo por su amor incondicional.

A mi querida madre por ser la persona más importante de mi vida, por ser mi amiga y consejera, por su comprensión, su confianza, su apoyo, porque a pesar de las dificultades que presenta la vida siempre me ha enseñado a salir adelante y a no rendirme, pero sobre todo por su amor incondicional.

A mi querido padre por ser el primordial promotor de mis sueños, por confiar y creer en mi día a día, por siempre anhelar y desear lo mejor para mí, por cada consejo y enseñanza que me guiaron a lo largo de mi vida, pero sobre todo por ser el apoyo más grande del mundo.

A mi hermana Giannelita por cuidarme durante toda mi vida, por darme cariño, consejos, por demostrarme el valor del verdadero amor, gracias por ser mi soporte en muchas cosas, quiero decirte que tu gran corazón me lleva a admirarte más.

A mi hermano Gerardo, por siempre ver mi bienestar, por estar siempre en mi vida no sólo aportando buenas cosas, sino también por su gran apoyo, por mantenernos siempre unidos a pesar de las adversidades.

A mi hermano Rodolfo por enseñarme a crecer con perseverancia, por darme consejos de fortaleza y seguridad, siempre agradeceré a la vida por tenerte como hermano.

A mi hermano Edgar por inculcarme valores, por darme cariño y siempre preocuparse por mí, por tu paciencia y amor que se que nunca nos faltará.

A mi abuelita Sabinita por tu amor incondicional y sincero, por siempre llevarme en tus oraciones y en tu corazoncito lleno de bondad.

A mis abuelitos Rodolfito, Natycita y Anacletito por cuidarme siempre desde el cielo, aunque sé que no están presente en cuerpo sé que siempre están acompañándome.

Al Ingeniero Rolando Rody Jara Huaranca por sus consejos, tiempo y sobre orientación para la ejecución de este proyecto.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de Juliaca y a la Escuela Profesional Ingeniería de Industrias Alimentarias que me proporciono los laboratorios académicos para la respectiva ejecución del presente proyecto.

A mis padres Moisés y Luisa por su apoyo incondicional en el transcurso de mi vida y mi formación profesional.

A mis hermanos Giannela, Gerardo, Rodolfo y Edgar por estar conmigo siempre y hacer de mí una mejor persona.

Al M.Sc. Julio Rumualdo Gallegos Ramos por su colaboración, comprensión y enseñanzas durante el desarrollo de este trabajo, gracias por estar presente y guiarme a lo largo de mi carrera universitaria.

A la D.Sc. Olivia Magaly Luque Vilca por su orientación y soporte que me permitió un buen aprovechamiento en el presente trabajo.

Mi más sincero agradecimiento al Ingeniero Rolando Rody Jara Huaranca por su tiempo, sus enseñanzas, por transmitirme siempre sus conocimientos, por su disponibilidad para ayudarme durante el desarrollo del proyecto, pero sobre todo por su paciencia que me permitieron seguir adelante.

A los miembros del jurado Mg. Carlos Ricardo Hanco Cervantes, D.Sc. Rubén Wilfredo Jilapa Humpiri y al M.Sc. Ciro William Taipe Huamán por la disponibilidad de tiempo para las sugerencias que hacen de este un mejor proyecto.

Agradezco desde el fondo de mi corazón a mis queridos tíos, Elena y Cris, gracias por ser mis segundos padres, por siempre preocuparse por mí, por darme tanto amor y por enseñarme a mirar siempre hacia adelante.

A mis tíos Cesar y Celia por ser parte de mi vida por darme afecto, cariño y consejos que me impulsaron a ser una mejor persona.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	I
AGRADECIMIENTOS	II
ÍNDICE GENERAL	iii
ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I	
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	
1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	2
1.2. OBJETIVOS	3
1.2.1. Objetivo general	3
1.2.2. Objetivos específicos	3
1.3. JUSTIFICACIÓN	4
CAPÍTULO II	
REVISIÓN DE LITERATURA	
2.1. ANTECEDENTES	5
2.2. QUINUA	7
2.3. TAXONOMÍA DE LA QUINUA	8
2.4. CARACTERÍSTICAS	8
2.5. COMPOSICIÓN NUTRICIONAL	9
2.6. TIPOS	9
2.7. QUINUA VARIEDAD INIA 420-NEGRA COLLANA	11
2.8. ORIGEN	11
2.9. CARACTERÍSTICAS	12
2.10. BETALAÍNAS	12
2.11. CLASIFICACIÓN	13
a. Betaxantinas	13
b. Betacianinas	13
2.12. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS	14
2.13. EQUIPO SOXHLET	16
2.14. COLORÍMETROS	21
2.15. CIELAB (L*A*B*)	22

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS	23
3.1.1. Materia prima	24
3.2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	24
3.2.1. Diseño experimental	24
3.2.2. Cuantificación espectrofotométrica de betalaínas	25
3.2.3. Medición de las coordenadas de color CIELab	25
3.3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL POR OBJETIVOS	26
a.) Identificación de variables	26
b.) Diseño experimental	26
1. Diagrama de Pareto y efecto de las variables	29
2. Análisis de varianza	29
3. Evaluación del modelo	34
4. Análisis gráfico	35

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS EN LA EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE BETALAÍNAS	36
4.1.1. Análisis estadístico para el diseño factorial 2^3	38
a) Diagrama de Pareto	38
b) Estimación de efectos	39
c) Estimación de interacciones	40
d) Modelo de regresión	41
e) Análisis de varianza	44
f) Superficie de respuesta y gráfico de contorno	46
g) Validación del modelo	49
4.2. EVALUACION COLORIMÉTRICA DE LOS EXTRACTOS	50

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES	55
5.2. RECOMENDACIONES	56
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	57
ANEXOS	60

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Taxonomía	8
Tabla 2. Componentes nutricionales de la quinua.	9
Tabla 3. Rangos y niveles de las variables independientes para la extracción de betalaínas	27
Tabla 4. Matriz experimental para el diseño factorial 2 ³	28
Tabla 5. Análisis de varianza para el diseño factorial 2 ³	34
Tabla 6. Indicadores estadísticos.	35
Tabla 7. Diseño factorial para la concentración de betalaínas (CB) extraída.	37
Tabla 8. Concentración de betalaínas (CB) determinadas con el modelo de regresión	42
Tabla 9. Niveles de las variables que maximizan la concentración de betalaínas (CB)	43
Tabla 10. Análisis de varianza para la concentración las betalaínas (CB).	44
Tabla 11. Ajuste del modelo de regresión para la concentración de betalaínas (CB).	49
Tabla 12. Coordenadas CIELab de las betalaínas extraídas.	50
Tabla 13. Saturación de color (C) de las betalaínas extraídas.	51
Tabla 14. Tono de color (°h) de las betalaínas extraídas.	53
Tabla 15. Absorbancias obtenidas en el diseño factorial 2 ³	61
Tabla 16. Diseño factorial para la concentración de betalaínas en términos de sus variables codificadas.	62
Tabla 17. Coeficientes del modelo de regresión de primer orden para la concentración de betalaínas	64

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Inflorescencia de la quinua.	8
Figura 2. Diferencias de color de las semillas de quinua.	11
Figura 3. Estructura del ácido betalámico.	12
Figura 4. Estructura de la betaxantinas	13
Figura 5. Estructura de la betacianina.	13
Figura 6. Extracción con Soxhlet.	17
Figura 7. Calentador múltiple, integra seis equipos de extracción.	20
Figura 8. Equipo Soxhlet utilizado para la extracción de betalaínas.	24
Figura 9. Diagrama de flujo para la extracción de betalaínas.	25
Figura 10. Tratamientos del diseño experimental para la concentración de betalainas	36
Figura 11. Estructura de la betalaína	37
Figura 12. Diagrama de Pareto para la concentración de betalaínas (CB).	38
Figura 13. Gráfica de efectos principales para la concentración de betalaínas (CB).	39
Figura 14. Gráfica de interacción para la concentración de betalaínas (CB).	40
Figura 15. Efecto del peso de quinua y tiempo de extracción para la concentración de betalaínas (CB): $c = 20\%$.	46
Figura 16. Efecto del peso de quinua y concentración de etanol para la concentración de betalaínas (CB): $t = 2$ h.	47
Figura 17. Efecto del tiempo del extracción y concentración de etanol para la concentración de betalaínas (CB): $w = 15$ g	48
Figura 18. Parámetros de color para cada una de las muestras de extractos obtenidos.	50
Figura 19. Color de saturación para cada una de las muestras de extractos obtenidos.	52
Figura 20. Color de saturación para cada una de las muestras de extractos obtenidos.	53

ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO 1:** Determinación de la concentración de betalaínas, betacianinas y betaxantinas por espectrofotometría UV/Vis.
- ANEXO 2:** Absorbancias obtenidas en los diseños factoriales
- ANEXO 3:** Diseños factoriales en términos de variables codificadas para la extracción de betalaínas.
- ANEXO 4.** Determinación de los coeficientes del modelo regresión de primer orden para los diseños factoriales.
- ANEXO 5.** Cálculos para el análisis de varianza (ANOVA)
- ANEXO 6.** Puntos porcentuales de la distribución F ; $F_{0.05, \nu_1, \nu_2}$
- ANEXO 7:** Panel fotográfico de equipos utilizados.
- ANEXO 8.** Panel fotográfico del proceso de ejecución
- ANEXO 9.** Panel fotográfico del proceso de contabilización de betalaínas, betaxantinas y betacianinas.
- ANEXO 10:** Panel fotográfico de medición de color en el espacio CIELAB (L^*a^*b) con el equipo colorímetro Konica Minolta

ÍNDICE DE NOMENCLATURA

INIA	: Instituto Nacional de Innovación Agraria
FOA	: Organismo de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
FDA	: Administración de alimentos y medicamentos
OMS	: Organización Mundial de la Salud
<i>c</i>	: Concentración de etanol
<i>w</i>	: Peso
<i>t</i>	: Tiempo
<i>h</i>	: Horas
<i>g</i>	: Gramos
<i>L</i>	: Luminosidad
<i>a</i>	: Verde/rojo
<i>b</i>	: Azul/amarillo
<i>C</i>	: Croma
$^{\circ}h$: Tono de saturación

RESUMEN

La quinua es un grano andino que cumple con los principios de seguridad alimentaria, con un alto valor nutritivo por sus proteínas, aminoácidos esenciales y compuestos bioactivos que brindan colorantes naturales (betalaínas). En el presente trabajo de investigación, el objetivo principal fue la evaluación del efecto de los parámetros fisicoquímicos en la extracción y cuantificación de color de betalaínas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) variedad INIA 420-Negra collana por el método soxhlet. Se determinó la influencia de los parámetros fisicoquímicos en la extracción de betalaínas por el método Soxhlet mediante un diseño factorial 2^3 , en la cual se evaluó el tiempo de extracción, peso de quinua y concentración de etanol; mediante el análisis de varianza se estableció que los parámetros de mayor influencia en el proceso fueron el tiempo de extracción y concentración de etanol; en los experimentos se obtuvo una concentración máxima de betalaínas igual a 2.24×10^{-3} mg/g correspondiente a los datos de absorbancias de 0.108 ($\lambda=538$ nm, betacianinas) y 0.195 ($\lambda=483$ nm, betaxantinas) utilizando 10 g de quinua, tiempo de extracción de 3 horas y concentración de etanol al 30%. La cuantificación de color se realizó en el sistema CIELab para la determinación de los parámetros de color L , a y b de los extractos obtenidos, en la cual el experimento N°1 mostró un valor óptimo de color donde se obtuvo un extracto de color rojo intenso cuyos parámetros fueron $L = 43.9$, $a = 60.6$ y $b = 35.3$ empleando un peso de quinua de 10 g, tiempo de extracción de 1 hr y concentración de etanol al 10%.

PALABRAS CLAVES: Quinua negra, betalaínas, método soxhlet, CIELab, colorímetro.

ABSTRACT

Quinoa is an Andean grain that complies with the principles of food safety, with a high nutritional value for its proteins, essential amino acids and compounds bioactives that provide natural colorants (betalains). In the present work of research, the main objective was the evaluation of the effect of the parameters Physicochemical factors in the extraction and color quantification of betalains from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) variety INIA 420-negra collana by the soxhlet method. The influence of the physicochemical parameters on the extraction of betalains was determined by the Soxhlet method using a factorial design 2³, in which the time was evaluated extraction, quinoa weight and ethanol concentration; using analysis of variance It was established that the parameters with the greatest influence on the process were the time of ethanol extraction and concentration; In the experiments, a concentration maximum of betalains equal to 2.24×10^{-3} mg/g using 10 g of quinoa, time of 3 hour extraction and 30% ethanol concentration. The color quantification is performed in the CIELab system for the determination of the color parameters L, a and b of the extracts obtained; the samples obtained had a luminosity (L) in the range from 23.6 to 43.9, parameter a was in the range from 22.8 to 60.8 and parameter b in the range from 11.8 to 70.2.

KEYWORDS: Black quinoa, betalains, soxhlet method, CIELab, colorimeter.

INTRODUCCIÓN

La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) es un grano alimenticio nativo de los andes peruanos y de la región andina de América del Sur, territorio importante como centro de domesticación de plantas, debido a la existencia de microclimas y diferencias altitudinales que dan lugar a una diversidad de zonas agroecológicas (Sanchez, 2019).

Es una planta herbácea de la familia de las Chenopodiaceae que alcanza una altura de 0.5 a 3.0 m, dependiendo del genotipo y de las condiciones ambientales, y tiene un tallo recto o ramificado de color variable. Las semillas son las que contienen la parte del mayor valor nutritivo; estos son pequeños gránulos con diámetros de entre 1.8 y 2.2 mm, de color variado: blanco, café, amarillo, rosado, gris, rojo y negro (Mujica et al., 2001).

Debido a su alto valor nutricional, su resistencia a diferentes condiciones agroecológicas (plasticidad genética), su tolerancia a los suelos salinos, su resistencia a temperaturas extremas y a la poca disponibilidad de agua, la quinua es un cultivo importante en la lucha contra el hambre en el mundo (MINAGRI, 2021). Su contenido en proteínas varía del 12% al 20% en algunas variedades, con una equilibrada composición balanceada de aminoácidos similar a la caseína (proteína de la leche animal), vitaminas y minerales esenciales (calcio, magnesio, zinc y hierro), así como polifenoles y fibra dietética (Ramirez, 2015).

También se sabe que la composición en compuestos fenólicos y pigmentos betalámicos de los granos de quinua puede diferir debido a los factores ecológicos y agronómicos, por lo que es necesario caracterizar quinuas provenientes de la sierra norte del país para conocer el efecto del procesamiento convencional de los granos de quinua antes de ser consumidos (Corrales, 2016). Si bien es cierto que la pérdida o degradación de estos compuestos es inevitable durante la producción, la investigación detallada sobre los efectos durante el procesamiento de los granos de quinua es necesaria para la comprensión de las posibles causas y factores que promuevan la pérdida de estos compuestos de interés, con el fin de encontrar medidas que se puedan tomar para reducir estas pérdidas. (Vidaurre, Dias, & Mendoza, 2017)

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Hoy en día nos enfrentamos a diferentes problemas, enfermedades provocadas por los colorantes artificiales, la industria alimentaria opta por estos colorantes ya que son más económicos y más accesibles obviando los problemas que posteriormente por su consumo excesivo puedan causar. (Sanchez Gonzales, Fonseca, & San Marín, 2013).

Las betalaínas no son utilizadas ampliamente en la industria alimentaria debido a su baja calidad en estabilidad de procesamiento y almacenamiento. A diferencia de otras fuentes de betalaínas, la quinua coloreada contiene cantidades significativas de amaranthin (121.9-148.6 mg/kg), isoamarantina (108.3-145.5 mg / kg) y dopaxantina (35.9-85.3 mg / kg) (Aguilar Tuesta & Mamani Navarro, 2017).

La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) es un grano de una planta originaria de la Región andina en América del Sur que ha sido reconocido como grano nutritivo en todo el mundo, recientemente se ha demostrado que los cultivares de quinua coloreada son una buena fuente de fenoles, flavonoles y betalaínas, las betalaínas actualmente están ganando popularidad en la actualidad como pigmentos para su uso como colorantes naturales y/o compuestos bioactivos debido a su antioxidante, anticancerígeno, actividades anti-lipidémicas y antimicrobianas, por lo tanto, las nuevas fuentes vegetales son valiosas e interesantes para las industrias funcionales de alimentos (Gengatharan *et al.*, 2015).

La quinua variedad INIA 420- Negra Collana tiene una amplia base genética ya que proporciona beneficios nutritivos similares a los de otros tipos de quinua. Es una fuente de proteínas completas, que contiene todos los aminoácidos necesarios para el cuerpo, además de proporcionar cierto contenido de betalaínas (INIA Estación Experimental Agraria Illpa-Puno, 2013).

El método de extracción Soxhlet es una de las operaciones más básicas del laboratorio se define como la acción de separar con un líquido una fracción específica de una muestra, dejando el resto lo más íntegro posible. Se pueden realizar desde los tres estados de la materia, y se llaman de la siguiente manera: Extracción sólido – líquido; extracción líquida – líquido y extracción gas – líquido (González, 2018).

Debido a lo anteriormente planteado surge como problemas de investigación:

- ¿Cómo será el efecto de los parámetros fisicoquímicos en la extracción y la cuantificación de betalaínas de la quinua (*Chenopodium quinoa* Wild) variedad INIA 420-Negra Collana por el método Soxhlet?
- ¿Cuáles son los parámetros fisicoquímicos que influyen en la extracción de betalaínas de la quinua (*Chenopodium quinoa* Wild) variedad INIA 420-Negra Collana por el método Soxhlet?
- ¿Cómo será la cuantificación de color de betalainas en los extractos obtenidos a partir de la quinua (*Chenopodium quinoa* Wild) variedad INIA 420-Negra Collana por el método Soxhlet?

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de los parámetros fisicoquímicos y la cuantificación de betalaínas de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) variedad INIA 420-Negra Collana por el método Soxhlet.

1.2.2. Objetivos específicos

- Determinar los parámetros fisicoquímicos que influyen en la extracción de betalaínas de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) variedad INIA 420-Negra Collana por el método Soxhlet.
- Cuantificar el color de las betalainas en los extractos obtenidos a partir de la quinua (*Chenopodium quinoa* Wild) variedad INIA 420-Negra Collana por el método Soxhlet.

1.3. JUSTIFICACIÓN

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 *et al.*, 2004).

La quinua 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 administración de alimentos y medicamentos (FDA) y la organización mundial de la salud (OMS) (Godenzi, 2013).

Los extractos acuosos de los granos de quinua constituyen una buena fuente de pigmentos (betacianinas) y antioxidantes naturales. En particular, estos extractos muestran una buena estabilidad a los tratamientos térmicos y almacenamiento, 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 (Godenzi, 2013).

Es por ello, que se ha propuesto en el presente trabajo investigar la influencia de los parámetros fisicoquímicos tales como la concentración de etanol (c), peso (w) y tiempo (t), que permitirán obtener la mayor cantidad de betalaínas, capacidad antioxidante y fenoles totales de los granos de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) variedad INIA 420 Negra Collana.

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

1.1. ANTECEDENTES

Tarazona *et al.* (2020), realizaron el artículo “Obtención de un colorante a partir de corteza de maracuyá con el uso de técnicas convencionales de extracción”, que tuvo como propósito “obtener un extracto rico en carotenoides a partir de su corteza; para ello, se evaluó la extracción con etanol, mediante tres técnicas: inmersión, baño termostático y Soxhlet. Al emplear el método Soxhlet, se consideraron concentraciones de etanol entre 80% a 90% v/v, tiempos entre 90 y 150 minutos, y una proporción solvente-materia prima de 40:1 y 50:1. Al aplicar la técnica, específicamente con una concentración de etanol del 90%, 50:1 de proporción solvente-materia prima, y 150 minutos de tiempo, se pudo conseguir un rendimiento de 2208,53 μg β -caroteno/100g muestra, por lo que, se concluyó que esta técnica permitió obtener mayor rendimiento de colorante.

Cavalcante (2021), realizó la tesis “Uso de corantes vegetais na indústria de alimentos como alternativa aos corantes artificiais: uma revisão”, donde se precisó que, con el cambio en las preferencias y hábitos alimentarios de la población, actualmente se incrementa la búsqueda de alternativas naturales. Entre ello, se encuentra el uso de aditivos para agregar color a la comida, siendo la tendencia actual utilizar colorantes naturales en vez de artificiales. Entre los pigmentos utilizados para realizar colorante, se encuentra la clorofila, antocianina, carotenoides y betalaínas, siendo esta última la que contiene el grano de quinua. Cabe señalar que estos pigmentos se utilizan para brindar color, y este varía en función a la fuente de producción y condiciones de pH del medio. Para extraer los pigmentos y fabricar colorante, actualmente, se aplican técnicas convencionales como el método soxhlet, el cual apunta a obtener mayor rendimiento del colorante, maximización de calidad del pigmento y reducción de solventes.

Aguilar Tuesta & Mamani Navarro (2017), realizaron la tesis “Obtención de colorante de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) y su estabilización mediante encapsulamiento por atomización en maltodextrina”. En esta investigación, se extrajeron betacianinas de cáscaras de quinua, de forma óptima con un ciclo=0.6, amplitud=70% y tiempo de extracción muy corto de 9.2 segundos. se obtuvo 96.477 mg de betalaínas respecto a 100 gramos de peso fresco de quinua. El contenido de betaxantinas en las cáscaras de quinua, esta se obtuvo en un ciclo de 0.7, amplitud de 90%, y se requirieron 40 segundos de tiempo para extraer, óptimamente, los pigmentos, que dio un total de 201,01 mg de betalaínas por cada 100 gramos de peso fresco de la muestra. El contenido de saponinas, se obtuvo entre 0.69 y 1.14 mg/g FW, así como 0.62 y 0.51 mg/g FW, se encontraron extractos de betaxantinas y betacianinas, respectivamente. Los parámetros cinéticos de estabilidad térmica a 90°C para betacianinas extraídas de cáscara de quinua, se pudieron comparar a aquellos medidos para la obtención de betalaínas de remolacha; por otro lado, la betaxantina obtenida de cáscara de quinua fue más termoestable, con $t_{1/2} = 37$ min y $k = 0.019$ min⁻¹. Se concluyó que la cáscara de quinua representa una fuente atractiva de betalaínas, además, su contenido de saponinas en los extractos permite generar ingredientes bifuncionales para ser utilizado en industrias farmacéuticas y comidas.

López & Foy (2018), en su artículo “Nuevo colorante natural a partir del grano de la quinua Cuchiwilla para alimentos saludables para niños”, se orientaron a “develar la capacidad colorante que posee el “Grano” de quinua como fuente de pigmentos rojos y de Betacianinas para desarrollar un nuevo colorante natural que innove la Industria de colorantes naturales y mejore los alimentos que utilizan aditivos”. Al realizar el análisis bioquímico, se evidenció que el grano de quinua contiene pigmentos que se caracterizan por su sabor, color, solubilidad, densidad y estabilidad, aspectos que reflejan su calidad. Adicionalmente, la quinua contiene betalainas que permiten que la semilla se convierta en una fuente de colorante natural.

Hañari (2018), en su tesis “Extracción de colorante a partir de las hojas de la espinaca (*Spinacia oleracea*)”, que tuvo como objetivo “Determinar las condiciones óptimas para la extracción de colorantes a partir de las hojas de la espinaca (*Spinacia oleracea*), por el método de extracción sólido-líquido” (p. 16). Como metodología, se utilizó el proceso de extracción sólido-líquido (método Soxhlet), por reflujo conveniente para la extracción de colorante, para lo cual se empleó 96% de alcohol como solvente. Se encontró que, mediante un tiempo de 60 minutos y haciendo uso de 2 a 10 gramos de hojas de espinaca,

se logró 12 ml de clorofila, obteniendo un rendimiento de 98,57 mediante el método sólido-líquido (método Soxhlet). Entre las variables que incidieron en el proceso de extracción, se consideró la cantidad, el tiempo y la concentración de solvente, contemplando 2 a 10 gramos, 24 a 48 horas y 20% a 98%, respectivamente. Finalmente, se concluyó que la cantidad de materia prima representa la variable de mayor significante en el proceso de extracción del colorante, siendo el método sólido-líquido (método Soxhlet) el que demostró un óptimo rendimiento.

Pumahuilca & Luna (2019), realizaron la investigación “Evaluación de la extracción por el método Soxhlet y determinación de la estabilidad del colorante a partir de inflorescencias de kiwicha (*Amaranthus caudatus*)”, que se orientó a la atracción de clorante de las inflorescencias de kiwicha (CICA-2006), para determinar la estabilidad del colorante a diferentes pH y caracterizar el colorante obtenido. Metodológicamente, se consideraron tres variables: solvente, tamaño de partícula, y tiempo. Respecto al solvente, esta consistió en agua acidulada al 1%: etanol; mientras que, respecto a la concentración, para la evaluación de consideraron los siguientes: 100%:0; 75%:25%; 50%:50%; 25%:75%; 0%:100%. Cabe resaltar que, para la extracción del colorante, se empleó el equipo Soxhlet. La variable que permitió la obtención de mayor colorante fue de la 75% de agua acidulada al 1%:25% de etanol, en un tiempo de dos sifonadas, y el tamaño de la partícula fue de 3680 μm , a partir de esta concentración, se obtuvo 1654 g de peso de colorante, empleando como muestra vegetal 10 g de inflorescencia.

1.2. QUINUA

La quinua, además de otras particularidades, presenta diversas denominaciones comunes: quinoa, parca, supha, suba, quingua, dacha, jupa, quiñoa, entre otros. Esta es una planta que se desarrolla anualmente, y que posee una gran diversidad y variabilidad. Cabe resaltar que el Perú, así como Ecuador y Bolivia, son los principales productores de quinua a nivel mundial, y este se cultiva tanto para consumo local como para fines de exportación (National Research Council, 1989).

La quinua es un cultivo andino que se consume desde épocas preincaicas, es decir, desde hace 3.000 a 5.000 años, quienes domesticaron y optimizaron el cultivo de esta planta, lo que condujo a que el lago Titicaca y las culturas prehispánicas sean consideradas como el centro de origen principal de este cereal (Rodríguez, 2018).

1.3. TAXONOMÍA DE LA QUINUA

La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) es una planta dicotiledónea que se produce anualmente, la cual presenta la siguiente taxonomía (Tabla 1):

Tabla 1. *Taxonomía de la quinua*

Reino	: Plantae
Subreino	: Streptophyta
Super división	: Spermatophyta
División	: Magnoliophyta
Clase	: Dicotyledonae
Subclase	: Rosidae
Orden	: Caryophyllales
Familia	: Amaranthaceae
Género	: Chenopodium
Especie	: Chenopodium quinoa

FUENTE: Bresinsky *et al.* (2012).

1.4. CARACTERÍSTICAS

La quinua es una planta herbácea que crece anualmente pudiendo alcanzar entre 0.5 y 0.3 metros de altura. Esta puede presentar tonalidades rojas, verde y púrpura, y puede ser, o no, ramificada. En cuanto a sus hojas, estas son escasas, simples, pecioladas, que tienen una extensión de 10 a 15 cm, siendo sus bordes lobulados-dentados u ondulados; no obstante, las hojas jóvenes son papilosas. En cuanto a sus flores, presentan inflorescencias glomerulares (Figura 1) que se agrupan en panículas axilares o terminales, que pueden tener un tamaño de entre 15 a 70 cm (Rodríguez, 2018).



Figura 1. Inflorescencia de la quinua.

FUENTE: Rodríguez (2018).

1.5. COMPOSICIÓN NUTRICIONAL

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) destaca el alto valor nutricional de la quinua, ya que es el único elemento que contiene todos los aminoácidos esenciales. Asimismo, este cereal genera sensación de saciedad por su alto porcentaje de fibra dietética total, ayudando en la eliminación de residuos y toxinas del organismo (FAO, 2011) (Gómez y Aguilar, 2016). Entre otras características, la quinua presenta un balance excepcional de grasas, proteínas, almidón y aceite, presentando un mayor contenido nutricional que el trigo y otros cereales (Nowak *et al.*, 2016).

Tabla 2. Componentes nutricionales de la quinua.

Componentes	Valor
Energía (kcal)	1.493
Carbohidratos disponibles (g)	57.20
Proteínas totales (g)	14.10
Agua (g)	13.30
Fibra dietética total (g)	7.000
Grasas totales (g)	6.100
Cenizas (g)	2.400

FUENTE: Nowak *et al.* (2016).

1.6. TIPOS

Según los botánicos como (Gómez & Aguilar, 2016), debido a que la quinua presenta una taxonomía de *Chenopodium Quinoa*, esta representa una única especie; sin embargo, presenta diversas variaciones, por lo que se clasifica en cinco ecotipos, en función de su localización:

a. Del nivel del mar

Este ecotipo se cultiva en el sur de Chile, es decir, a menos de 500 metros de altitud, siendo esta característica de la que deriva su denominación. Entonces, el ecotipo al nivel del mar hace referencia a la variación chilena de quinua, la cual, se caracteriza por ser de

semillas transparentes, plantas ramificadas, colores crema y de sabor amargo (Gómez & Aguilar, 2016).

b. De los valles

Este ecotipo crece en valles interandinos, entre los 2000 a 4000 metros de altitud. Entre sus variaciones se encuentra la quinua rosada y blanca de Junín, dulce de Quitopampa, amarilla de Matangani y dulce de Lazo. Entre sus principales características, la quinua de los valles es una planta ramificada, con periodos cortos de crecimiento (Gómez & Aguilar, 2016).

c. Del Altiplano

El ecotipo del Altiplano se produce en zonas cercanas al lago Titicaca, es decir, a una altitud entre 3500 a 4000 metros de altitud. Este ecotipo engloba las variaciones de Kancolla, Cheweca y Blanca de Julí, siendo sus principales características ser de resistentes a las heladas y de tamaño corto, así como tallos rectos (Gómez & Aguilar, 2016).

d. De los salares

Este ecotipo se cultiva al sur de Bolivia, entre los 3700 a 3800 metros de altitud. La única variación que presenta es la real, y entre sus características se encuentra ser una planta con alto contenido de saponinas, y que presenta una alta adaptación a suelos alcalinos y salados (Gómez & Aguilar, 2016).

e. De los yungas

Quinto ecotipo de la quinua, cultivado en el área subtropical de Bolivia, es decir, entre los 2500 a 3000 metros de altitud. Entre las características del ecotipo de los yungas se encuentra su intensidad verdosa, semillas de tonalidad naranja, además de integrar hojas pequeñas (Rodríguez, 2018)

Finalmente, según Rodríguez (2018), la quinua puede categorizarse según el color de la semilla, siendo esta una tipología de carácter comercial. Las tonalidades de la quinua son negra, roja y blanca, como se presenta en la Figura 2.



Figura 2. Diferencias de color de las semillas de quinua.

FUENTE: Rodríguez (2018).

1.7. QUINUA VARIEDAD INIA 420-NEGRA COLLANA

La demanda de quinuas de colores en el mercado nacional e internacional es cada vez mayor, independientemente del tamaño del grano, lo que contribuye a la seguridad alimentaria. Por lo tanto, es necesario evaluar y recuperar las quinuas de colores para la agroindustria y su potencial gastronómico para la diversificación de platos como purés, sopas, torrijas y pastas, así como para su utilización como colorantes naturales (Ministerio de Agricultura, 2013).

Consecuentemente, el Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), ha puesto a disposición de los productores agrarios del Altiplano la variedad de quinua negra, también denominada INIA 420-Negra Collana, la cual tiene un alto potencial de rendimiento, tolerancia a plagas y bajas temperaturas, además de precocidad (Ministerio de Agricultura, 2013).

1.8. ORIGEN

Según el Ministerio de Agricultura (2013), la quinua INIA 420-Negra Collana posee una amplia base genética, puesto que se conforma por 13 accesiones que provienen de 12 localidades, y es el resultado de la adaptación, identificación y eficiencia del cultivo de quinua por parte de los agricultores de las comunidades campesinas de Collpa, Vizcachani, Collana, Mañazo, Cieneguilla, Ilave, Pilcuyo, todos ellos pertenecientes a la región Puno.

1.9. CARACTERÍSTICAS

La quinua negra o quinua INIA 420-Negra Collana, se desarrolla óptimamente en el altiplano, es decir, entre los 3815 a 3900 metros de altitud, a una temperatura entre 4°C y 15°C, y en precipitación de 400 a 550 mm (Ministerio de Agricultura, 2013).

Entre sus características morfológicas, se encuentra el diámetro de su tallo, que alcanza entre 1.2 a 1.5 cm, altura de 100 cm a 110 cm, ausencia de axilas pigmentadas, presencia de estrías de tonalidad verdosa, color verde de la planta, y ausencia de ramificación. En cuanto a las hojas, el borde de las hojas es dentado, y el diámetro del fruto es de 1,6 mm (Ministerio de Agricultura, 2013).

1.10. BETALAÍNAS

Las betalaínas son pigmentos solubles en agua, a base de nitrógeno, que les dan a los alimentos una gama de colores que van del amarillo al rojo. Estos pigmentos pueden encontrarse en semillas, frutos, flores, hojas, tallos y/o variedades de plantas pueden, y se caracterizan por ser su actividad antioxidante. Cabe resaltar que, hoy en día, las betalaínas se consideran una alternativa factible a los colorantes sintéticos, ya que la utilización de este último cada vez más cuestionada por los consumidores (Marañón *et al.*, 2011).

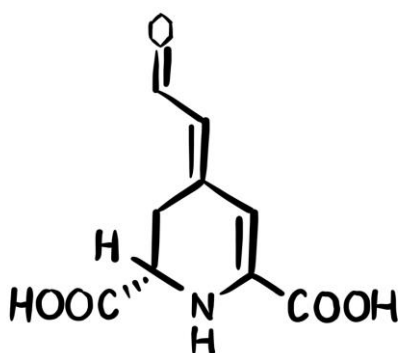


Figura 3. Estructura del ácido betalámico.

FUENTE: Belhadj *et al.* (2017).

Las betalaínas están formadas por dos tipos de estructuras: Betacianinas y Betaxantinas, ambas oportunamente activas, debido a la presencia de dos centros quirales en C-2 y C-15 (Marañón *et al.*, 2011).

1.11. CLASIFICACIÓN

a. Betaxantinas

Las betaxantinas se genera producto de la condensación de este ácido con aminas o aminoácidos, y reducen las tonalidades amarillas a anaranjadas (Marañón *et al.*, 2011).

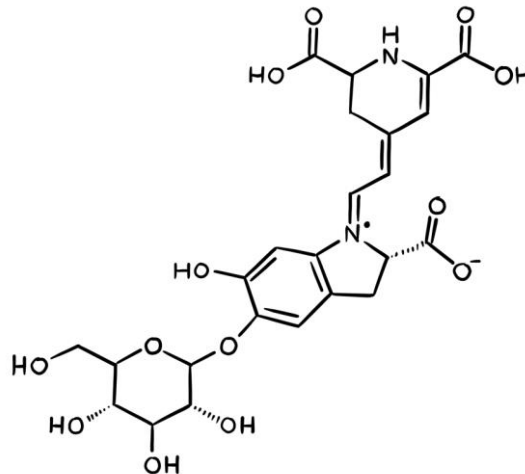


Figura 4. Estructura de la betaxantinas

FUENTE: Belhadj *et al.* (2017).

b. Betacianinas

Las betacianinas tienen una estructura química Dopa y pueden exhibir una variedad de sustitutos, así como los colores rojo y violeta. La betacianina es la más conocida de las betacianinas (Marañón *et al.*, 2011).

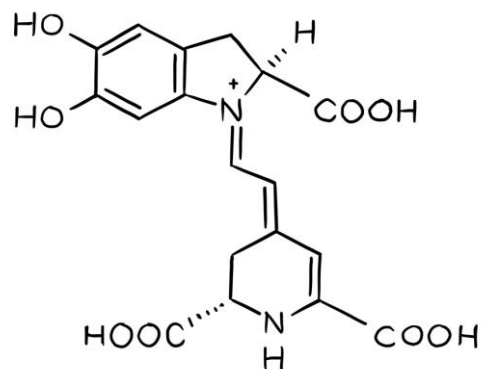


Figura 5. Estructura de la betacianina.

FUENTE: Belhadj *et al.* (2017).

1.12. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS

Flores *et al.* (2019) destacan las siguientes características químicas de las betalaínas.

a. Temperatura

Según Reshmi *et al.* (2012), uno de los factores de los que depende la degradación de la betalaína es la temperatura, y esta sigue una cinética de reacción de primer orden que, a su vez, depende del pH. Cabe señalar que la temperatura es el elemento más crítico en la estabilidad de las betalaínas durante el procesamiento y almacenamiento de los alimentos. De acuerdo con (Hernández & Salazar, 2017), la isomerización, hidrólisis, desglicosilación, descarboxilación y deshidrogenación son algunas de las formas en que las betalaínas pueden degradarse durante los procesos térmicos. Reshmi *et al.* (2012).

Es de destacar que las betalaínas poseen mayor estabilidad a temperaturas más bajas, siendo 4°C la temperatura más baja a la que se puede mantener la estabilidad de los componentes betalámicos, en comparación con temperaturas más altas Flores *et al.* (2019). Los productos de descarboxilación de betalaínas, durante los tratamientos térmicos, son el ácido betalámico (amarillo brillante) y ciclodopa-5-O-glucósido (incoloro). Cabe precisar que, cuando la betalaína se deshidrogena, se genera otro compuesto betalámico, denominado neobetanina, el cual genera un cambio de color de rojo a amarillo (Hernández y Salazar, 2017).

b. pH

Las betalaínas son estables en soluciones con un rango de pH de 3.0 a 6.0. Si los compuestos no se encuentran dentro de este rango, sufren una rápida degradación, que se acompaña de una pérdida de color. Cabe señalar que la betalaína se degrada a ácido betalámico y ciclodopa-5-O-glucosido en condiciones alcalinas (Schwartz y von Elbe, 1983). Es preciso subrayar que, de acuerdo con Herbach *et al.* (2006), en esencia, se considera que las betacianinas tienen una mejor estabilidad del pH, mientras que las betaxantinas son más resistentes a los ambientes ácidos Herbach *et al.* (2006).

c. Luz

La estabilidad de las betalaínas se ve afectada por la luz, siendo la absorción UV una de las principales causas de la degradación del color. No obstante, se requiere la presencia

de oxígeno para la degradación del pigmento por la luz, ya que esto no ocurre en condiciones anaeróbicas. Además, es de subrayar que este tipo de degradación se puede evitar utilizando ácido ascórbico (Janiszewska, 2014).

Cabe resaltar que la presencia de luz y oxígeno tiene un efecto sinérgico. En este sentido, la luz provoca una degradación del color del 15.6% y una degradación del oxígeno del 14.6%, sin embargo, la combinación de ambos provoca una degradación del 28.6% (Flores *et al.*, 2019).

No todas las fuentes de luz provocan degradación de las betalaínas, sin embargo, diferentes longitudes de onda de luz pueden provocar un efecto aditivo de color en estas. Como resultado, la luz azul combinada con la luz infrarroja provoca una mayor acumulación de betacianinas (Herbach *et al.*, 2006).

d. Oxígeno

La betalaína reacciona con el oxígeno y cuando se almacena en presencia de oxígeno, se tiende a degradar el color de la betalaína. No obstante, se ha demostrado que los bajos niveles de oxígeno optimizan la recuperación del pigmento, luego de que este se haya degradado. Entonces, la eliminación del oxígeno disuelto mejora la estabilidad de los compuestos betalámicos. Se puede afirmar que el oxígeno tiene un papel fundamental en la degradación de las betalaínas, especialmente cuando se almacena a más de 4 °C y en presencia de luz (Flores *et al.*, 2019).

e. Metales

Los metales son un factor a considerar en la degradación de los pigmentos betalámicos. Entre los metales que inciden en la estabilidad de la betalaína, se encuentra el cobre, aluminio, hierro, el aluminio y estaño, ya que aceleran la pérdida de su tonalidad. Algunos autores han recomendado la utilización de ácido cítrico como agente quelante para reducir la degradación del color en los pigmentos causada por iones metálicos (Hernández y Salazar, 2017).

f. Actividad del agua

Cuando la actividad de agua (a_w) es 0.63, se consigue una mayor estabilidad en las betalaínas. Cabe señalar que la a_w influye en la estabilidad de los componentes

betalámicos, ya que el agua favorece la rotura del enlace aldimina del compuesto. Al respecto, diversos autores señalan que, cuando se utilizan métodos para reducir el contenido de agua, como la atomización y liofilización, la estabilidad de estos compuestos mejora (Herbach *et al.*, 2006).

g. Actividad enzimática

Otro factor que provoca la inestabilidad de las betalámicas, es la insuficiente activación enzimática de enzimas como glucosidasas, polifenoloxidasas y peroxidasas. Cabe señalar que las glucosidasas afectan la estabilidad de las betalaínas al formar agliconas; mientras que, las peroxidasas producen radicales y finalmente, las polifenoloxidasas oxidan principalmente los fenólicos sin color. Todo ello conlleva a la inactivación de las betalaínas y, en consecuencia, provoca la decoloración de los compuestos betalámicos (Schwartz y von Elbe, 1983).

1.13. EQUIPO SOXHLET

Una de las operaciones básicas del laboratorio es la extracción. Se define como la acción de separar una determinada fracción de una pintura con un líquido y dejar el resto lo más prístino posible. El procedimiento para llevar a cabo su extracción se basa en la extracción sólido-líquido en continuo, empleando un disolvente, con posterior evaporación de éste y pesada final del residuo. El resultado representa el contenido de sustancias extraíbles, que mayoritariamente son grasas, aunque también hay otras sustancias como las vitaminas liposolubles y pigmentos en el caso de su determinación en alimentos. Las extracciones pueden realizarse desde cualquiera de los tres estados materiales y se denominan: 1) Extracción sólido-líquido; 2) extracción líquido-líquido; y 3) extracción gas-líquido. El primero es el más utilizado (Núñez, 2008).

De acuerdo con (Núñez, 2008), los siguientes pasos forman la base de la extracción Soxhlet:

- 1) Coloque el solvente en un recipiente.
- 2) ebullición del solvente que evapora hasta un reflujo condensador.
- 3) El condensado cae en un recipiente que contiene una tarjeta porosa con la ilustración en su interior.

- 4) Ascensión del nivel de solvente, encerrando el cartucho, hasta el punto en que se produce el reflujo, devolviendo el solvente a su estado original con el material removido del balón
- 5) Este proceso se repite el número de veces necesario para completar la exhibición. El material extraído se concentra en el balón del solvente.

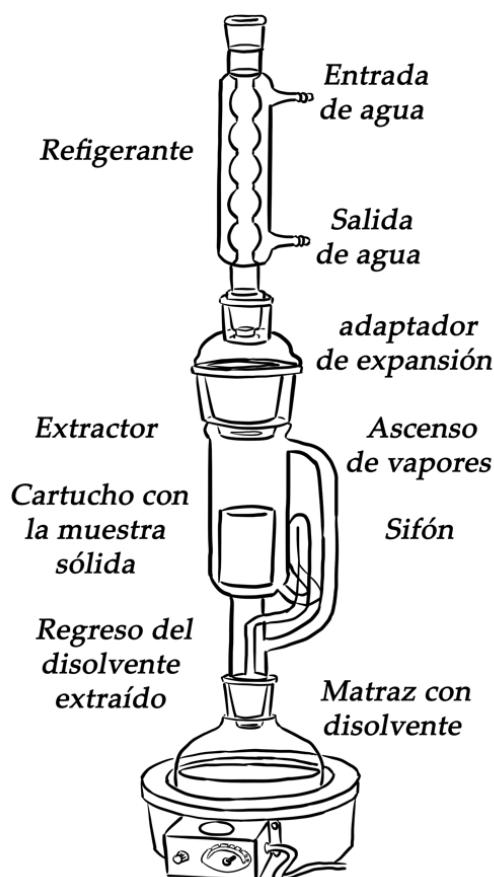


Figura 6. Extracción con Soxhlet.

FUENTE: Núñez (2008).

Las siguientes secciones intentarán explicar estas etapas paso a paso, con aclaraciones especiales proporcionadas según sea necesario:

a) Preparación de la muestra

La operación comienza con la preparación de la muestra. Cada sistema de trabajo tiene su propio método de preparación. Con frecuencia, la muestra debe dividirse en trozos más grandes o más pequeños. Con la muestra lista, se procede a alistar el cartucho de extracción (Núñez, 2008).

b) Cartuchos

Este cartucho consta de un recipiente cilíndrico con una base semiesférica que soporta perfectamente la base del extractor y además es más resistente. Los materiales más utilizados son el algodón prensado y la porcelana porosa. Los primeros son más rentables, pero menos duraderos. El gres porcelánico también se puede lavar con una solución sulfocrómica de forma habitual. Con el paso del tiempo, los extractivos van contaminando los algodones (Núñez, 2008).

Los cartuchos suelen estar medio llenos o un poco más, y es mejor no meter demasiada información en ellos para evitar que se dificulte la difusión. El tamaño del cartucho y el tamaño del extractor están determinados por el número de especímenes. Como resultado, los soxhlet vienen en una variedad de tamaños y es una buena idea averiguar qué tamaño se necesitará este antes de comenzar a trabajar (Núñez, 2008).

c) Tapón del cartucho

Una vez cargado el material, que puede hacerse con la mano en el caso de hojas, tallos, entre otros, o con embudo o cuchara de cocina si el material está húmedo, es necesario colocar un tapón para evitar que se despliegue, se caerse y escaparse del cartucho. El hecho con una torunda de algodón envuelta o nada en gasa es el más usado. Debido a que las paredes del cartucho suelen ser ásperas, se debe conseguir que el tapón alcance el fondo, para lo cual se puede hacer uso de una espátula o los dedos (Núñez, 2008).

d) Colocación del solvente

La cantidad de solvente debe ser suficiente para asegurar que al ascender el cartucho y antes de realizar la sifonada, el balón inferior no se humedezca por ello, o cuando el líquido de la sifonada caiga sobre el vidrio recalentado, se produzca una explosión de vapores, planteando un riesgo de accidente Si la cantidad a agregar no está especificada en el estándar, el solvente se carga lentamente desde arriba para llenar el cartucho y luego producir el rechupe; esta es la cantidad más pequeña (Núñez, 2008).

Sin embargo, tal como señala (Núñez, 2008), debido a que hay una pérdida de solvente por evaporación durante la operación, y debido a que es necesario dejar una pequeña cantidad en el balón para que el extracto no se concentre demasiado, es necesario agregar al menos una cantidad similar en exceso

e) Solventes a utilizar

Si se sigue un estándar o técnica, obviamente se indicará el solvente. Sin embargo, con frecuencia se realizan extracciones que no están normalizadas, particularmente en laboratorios de investigación. Como resultado, es útil conocer la gama de estas sustancias que se pueden utilizar en el extractor Soxhlet. La experiencia es que hay una temperatura máxima y mínima de ebullición a la que el equipo funciona correctamente. El diclorometano (metilo cloruro) se localiza en la extremidad inferior y se utiliza para la extracción selectiva de grasas y resinas (Núñez, 2008).

Este solvente tiene un punto de ebullición de 40 °C, que es bastante cercano a la temperatura ambiente, especialmente en climas cálidos. Al extraer con agua refrigerada a 26°C se pierde más de la mitad del solvente. Dicho de otro modo, por la cantidad limitada de energía que generan los calentadores comunes, al aumentar el punto de ebullición se reduce la velocidad de evaporación del solvente y, en consecuencia, la velocidad de extracción (Núñez, 2008).

f) Calentamiento y refrigeración

La importancia de la ubicación de las mangueras se puede ver en la Figura 7, porque habrá diez conexiones de agua si hay seis refrigeradores. Las conexiones se pueden realizar en serie o en paralelo. La conexión serial es más práctica porque solo requiere una canilla y un desagüe. La única limitación es que la temperatura del agua refrigerante sube a medida que el líquido pasa de un refrigerante a otro, y una falla es que el sistema funciona como un todo, y si se quita un equipo hay que volver a instalar las mangueras (Núñez, 2008).

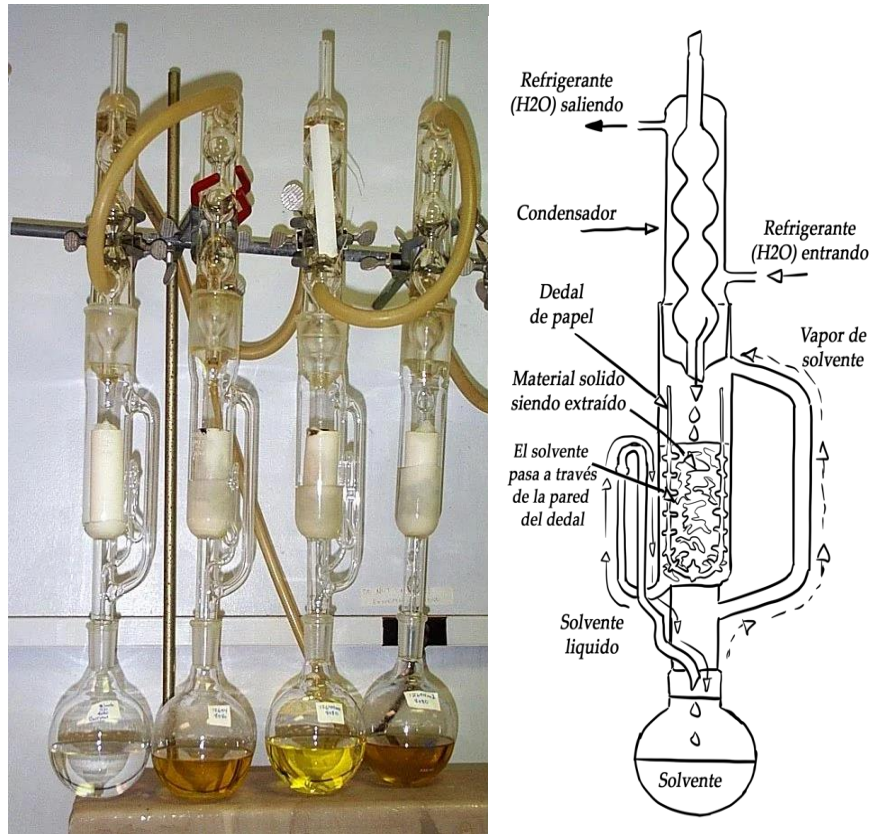


Figura 7. Calentador múltiple, integra seis equipos de extracción.

FUENTE: Núñez (2008).

En un sistema paralelo o individual, cada equipo tiene su propia entrada y salida de agua, siendo necesario más canillas y desagües, no obstante, se puede instalar un sistema de canillas con múltiples salidas y colector de efluentes. Debido a que el consumo es tan alto, se debe regular el caudal de agua para consumir solo lo necesario, sobre todo si se utiliza el agua potable de canilla (Núñez, 2008).

g) Operación de extracción

Una vez que el equipo está listo, se debe abrir el agua, encender el refrigerador, cargar el cartucho con muestras e insertar el solvente, solo queda encender el calentador y comenzar la operación. Cuando la temperatura del solvente alcanza la de ebullición, comienza a evaporarse y, luego de calibrar las paredes del equipo, comienza a condensarse en el refrigerador y cae en forma de gotas sobre el cartucho. La primera operación es completamente insignificante, y no debe registrarse en el recibo que se utiliza para regular la velocidad de extracción, como es habitual (Núñez, 2008).

Una vez que el sistema está en su lugar, las sifonadas se producen a intervalos regulares. El tiempo típico de sifonado es de 5 a 20 minutos, dependiendo de la potencia del calentador, el solvente, la temperatura externa y otros factores. El número de sifonadas está especificado en la norma, sin embargo, existen oportunidades para trabajar en sistemas sobre los cuales no se tiene información. Como resultado, es útil tener una idea de cómo funciona el proceso de extracción en general. Con ese fin, se puede utilizar una unidad de extracción con un robinete adjunto a la mitad inferior de la unidad para extraer muestras sin tener que desmontar la unidad (Núñez, 2008).

Como resultado, es útil tener control sobre este componente de extracción cuando se trabaja con sistemas desconocidos. Es importante recordar que incluso una solubilidad o degradación menor puede generar errores significativos cuando se repite muchas veces (Núñez, 2008).

h) Culminación de la operación

Una vez finalizada la operación de extracción, se recomienda esperar un cierto tiempo a que el sistema encienda hasta que sea fácil de manipular. De momento, no olvides cerrar la puerta del frigorífico para evitar consumos innecesarios. Luego, desarma el equipo y retira el cartucho empapado en solvente, que luego se coloca en un área abierta o en la campana para secar la exhibición. La remoción de la muestra del cartucho húmedo puede resultar en su deterioro. Si es necesario, el extractor debe ajustarse para que esté listo para la próxima vez. Y con eso, la operación de extracción se completa (Núñez, 2008).

1.14. COLORÍMETROS

Los colorímetros no son espectrofotómetros. Los colorímetros son dispositivos triestimulares (tres filtros) que usan filtros rojo, verde y azul para emular la respuesta del ojo humano al color y la luz. En algunas aplicaciones de Control de Calidad estas herramientas representan la respuesta de menor costo. Los colorímetros no pueden compensar el metamerismo (un cambio en la apariencia de una muestra debido a la luz usada para iluminar la superficie). Como los colorímetros usan un solo tipo de luz (como incandescente o Xenón pulsado) y porque no registran la reflectancia espectral no pueden predecir este cambio. Los espectrofotómetros pueden compensar este cambio, haciendo a los espectrofotómetros la mejor selección para La instrumentación y la comunicación

de datos de color son tan importantes como los datos de color mismos. A través de la cadena de suministros, diferentes proveedores pueden usar diferentes procesos y diferentes equipos de formulación de color y de aseguramiento de la calidad, haciendo que la compatibilidad sea un componente esencial. (Ordoñez & Maza, 2013).

1.15. CIELAB ($L^*A^*B^*$)

Cuando un color se expresa en CIELAB, la L^* define la claridad, a^* denota el valor rojo/verde y b^* el valor amarillo/azul. En el diagrama de color para $L^*a^*b^*$. El eje a^* corre de izquierda a derecha. Una medición de color en la dirección $+a^*$ muestra un desplazamiento hacia el rojo. En el eje b^* un movimiento hacia $+b^*$ representa un cambio hacia el amarillo. El centro del eje L^* muestra $L=0$ (negro o absorción total) en el fondo. En el centro de este plano es neutral o gris (Ordoñez & Maza, 2013).

Los valores a^* y b^* de las flores A y B intersectan los espacios de color identificados de manera correspondiente como A y B. Estos puntos especifican el matiz (color) y croma (apagado /viveza). Cuando sus valores L^* (grado de claridad) se agregan para obtener el color final. (Ordoñez & Maza, 2013).

La coordenada L^* recibe el nombre de Claridad y puede tomar valores entre 0 y 100, para estímulos independientes toma siempre el valor 100 y no sirve para su especificación, las coordenadas colorimétricas a^* y b^* forman un plano perpendicular a la Claridad, la coordenada a^* define la desviación del punto acromático correspondiente a la Claridad, hacia el rojo si $a^* > 0$, hacia el verde si $a^* < 0$. Análogamente la coordenada b^* define la desviación hacia el amarillo si $b^* > 0$, hacia el azul si $b^* < 0$.

El conjunto a^*,b^* recibe el nombre de Cromaticidad y junto con la Claridad definen el color de un estímulo. Se corresponde con el término cromaticidad (x,y) y como él ni indica explícitamente el tono y la saturación.

El Croma, C^* , tiene el valor 0 para estímulos acromáticos y, por lo general, no pasa de 150 aunque puede superar ese valor para estímulos monocromáticos. El Tono angular, h^* , varía entre 0° y 360° y para estímulos acromáticos ($a^* = 0$, $b^* = 0$) es una magnitud no definida. Ambos términos también definen la cromaticidad del color del estímulo y junto con la claridad determinan las coordenadas cilíndricas del espacio CIELab.

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

a) Materiales

- Vasos de precipitados de 500 mL.
- Varilla de agitación.
- Espátula cuchara de acero inoxidable.
- Mangueras de látex.
- Probeta de 100, 250 y 500 mL.
- Mortero grande.
- Frascos de Vidrio de 250 mL.
- Papel filtro.
- Matraces volumétricos.
- Tubos de ensayo y gradilla
- Pipetas de 1, 5, 10 mL.
- Cristalizador.
- Termómetro.

b) Equipos

- Balanza analítica (Mettler-Toledo ML204T).
- Espectrofotómetro UV-Vis (Unico SQ-4802).
- Espectrofotómetro Konica Minolta (CM-700D).
- Manta de calentamiento (Nahita 655).
- Equipo soxhlet (Nahita)
- Estufa eléctrica (J.P. Selecta).

c) Reactivos

- Agua destilada.

- Alcohol etílico C_2H_5OH 96% (J.T. Baker, p.a.).
- Ácido cítrico monohidratado $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ (J.T. Baker, p.a.).
- Fosfato disódico dihidratado $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ (J.T. Baker, p.a.).

2.1.1. Materia prima

La materia prima para el desarrollo del trabajo de investigación fue la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) variedad INIA 420-Negra Collana proporcionado por el Instituto Nacional de Innovación Agraria ubicada en la región Puno a los 3827 m.s.n.m.

2.2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

2.2.1. Diseño experimental

La extracción de betalaínas de los granos de quinua se realizó utilizando el equipo de extracción Soxhlet. En primer lugar, se pesaron en una balanza analítica la quinua negra Collana previamente secada. Las muestras de quinua fueron colocadas en cartuchos contruidos de papel filtro. Se ensambló los equipos de extracción Soxhlet para realizar la extracción de los colorantes de la quinua. Se adicionaron 300 mL de solución de etanol de distintas concentraciones a través de la cámara de extracción. Se realizó la extracción durante varias horas, luego se dejó enfriar hasta temperatura ambiente. Se retiró el cartucho del extractor Soxhlet y el extracto de los colorantes se concentraron en un rotavapor. Finalmente, las muestras fueron almacenadas a una temperatura de 4 °C aproximadamente para su posterior análisis.

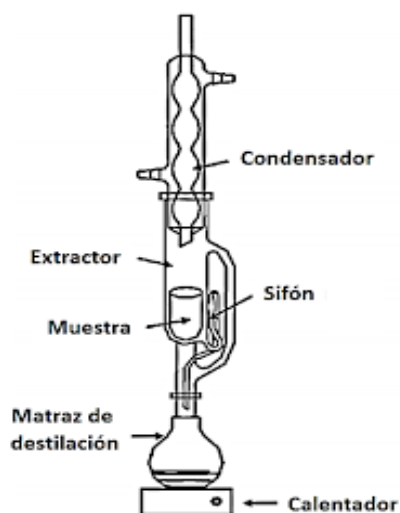


Figura 8. Equipo Soxhlet utilizado para la extracción de betalaínas.

FUENTE: (Luque de castro & Priego, 2010)

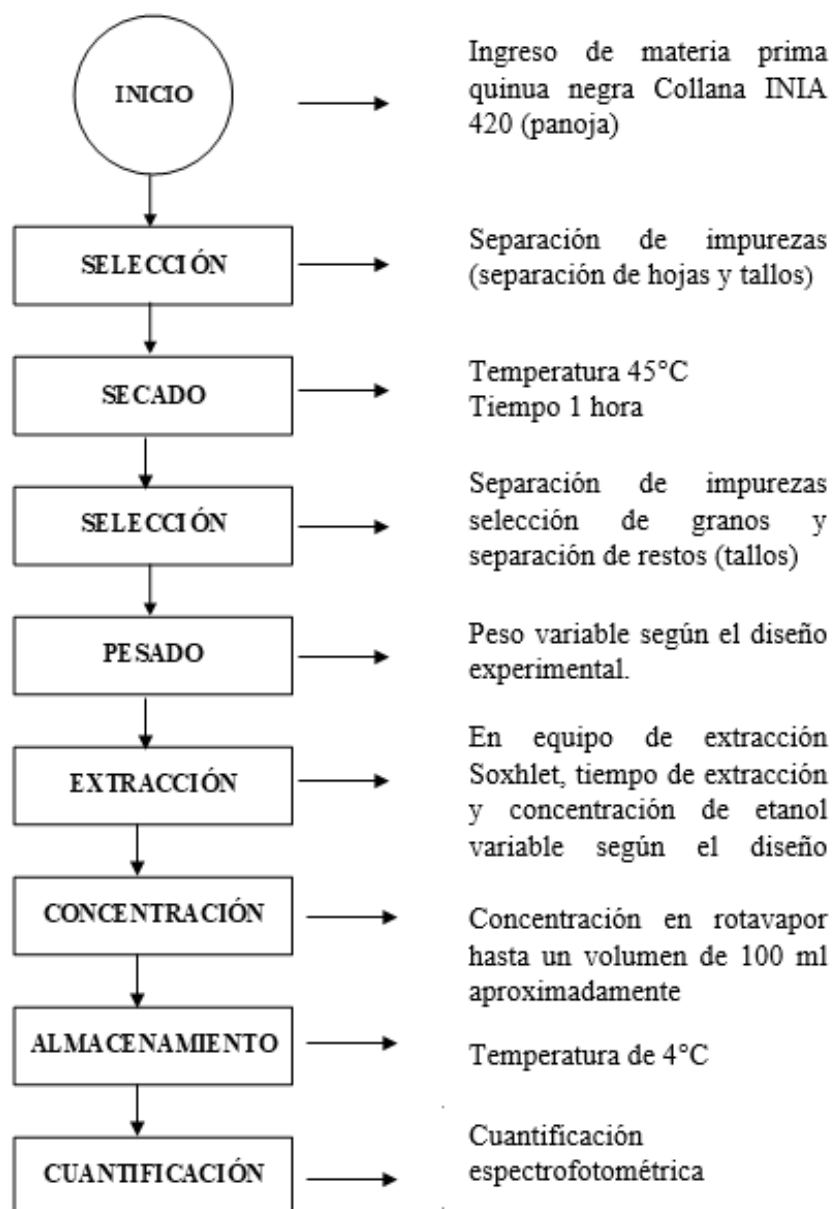


Figura 9. Diagrama de flujo para la extracción de betalinas.

2.2.2. Cuantificación espectrofotométrica de betalinas

La concentración de betalinas se cuantificó espectrofotométricamente UV/Vis de acuerdo al método descrito por Castellanos-Santiago y Yahia (2008).

2.2.3. Medición de las coordenadas de color CIELab

Las mediciones de color se expresaron en términos de luminosidad L ($L = 0$ para el negro y $L = 100$ para el blanco), y los parámetros de cromaticidad a (verde [-] y rojo [+]) y b (azul [-] y amarillo [+]). Empleando estos parámetros se calcularon las coordenadas C (croma) y $^{\circ}h$ (tono) utilizando las siguientes ecuaciones:

$$C = (a^2 + b^2)^{1/2} \quad (1)$$

$$h = \operatorname{arctg} \left(\frac{b}{a} \right) \quad (2)$$

2.3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL POR OBJETIVOS

Determinación de los parámetros fisicoquímicos que influyen en la extracción de betalaínas de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) variedad INIA 420-Negra Collana por el método Soxhlet”

Para el cumplimiento de este objetivo, los experimentos se realizaron en los Laboratorios Generales-Laboratorios de Química de la Universidad Nacional de Juliaca.

a.) Identificación de variables

Variables independientes

- Peso de quinua (g).
- Tiempo de extracción (h).
- Concentración de etanol (%).

Variables dependientes

- Concentración de betalaínas (mg/g).

b.) Diseño experimental

La evaluación de los parámetros fisicoquímicos que influyen en la extracción y cuantificación de betalaínas de la quinua variedad INIA 420-Negra Collana (*Chenopodium quinoa* Willd.) por el método Soxhlet, siguiendo los pasos del diagrama de flujo de la Figura 9 y empleando el diseño factorial de 3 variables y 2 niveles. Las variables y sus niveles se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Rangos y niveles de las variables independientes para la extracción de betalainas

Variable (unidad)	Factores		Nivel	
	x	-1	0	1
Peso de quinua, w (g)	x_1	10.00	15.00	20.00
Tiempo de extracción, t (h)	x_2	1.00	2.00	3.00
Concentración de etanol, c (%)	x_3	10.00	20.00	30.00

El número total de experimentos (N) para el diseño factorial se determinó con la siguiente Ecuación (3):

$$N = 2^k + n_0 \quad (3)$$

Donde k es el número de factores y n_0 es el número de puntos centrales. Entonces para 3 variables ($k = 3$) y considerando 3 experimentos en el centro ($n_0 = 3$), el número de experimentos según la ecuación será:

$$N = 2^3 + 3 = 11$$

La matriz del diseño experimental realizando todas las combinaciones posibles entre niveles y variables se expone en la Tabla 4. Estos valores sirvieron de guía para conducir los experimentos y los resultados se anotaron adecuadamente en la Tabla 4 para proceder a su tratamiento estadístico.

Tabla 4. Matriz experimental para el diseño factorial 2³

N°	Variables independientes			Variable respuesta
	w (g)	t (h)	c (%)	CB (mg/g)
1	10	1	10	
2	20	1	10	
3	10	3	10	
4	20	3	10	
5	10	1	30	
6	20	1	30	
7	10	3	30	
8	20	3	30	
9	15	2	20	
10	15	2	20	
11	15	2	20	

La concentración de betalaínas (CB) extraídas se determinó espectrofotométricamente según el método descrito por Castellanos-Santiago y Yahia (2008) (Anexo 1).

Se utilizó el modelo de regresión de primer orden para ajustar los datos experimentales obtenidos del diseño experimental:

$$y = \beta_0 + \sum_{i=0}^k \beta_i x_i + \sum_i \sum_j \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon \quad (4)$$

Donde y es la variable respuesta x representa las variables independientes y β son los coeficientes del modelo. Desarrollando la Ecuación (5), considerando 3 variables para la matriz experimental del diseño factorial 2³ tenemos:

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_4 x_1 x_2 + \beta_5 x_1 x_3 + \beta_6 x_2 x_3 + \beta_7 x_1 x_2 x_3 \quad (5)$$

Los coeficientes del modelo fueron calculados utilizando la Ecuación (5), como se detalla en el Anexo 3.

Cuantificación de color de las betalainas en los extractos obtenidos a partir de la quinua (*Chenopodium quinoa* Wild.) variedad INIA 420-Negra Collana por el método Soxhlet”.

Para el cumplimiento de este objetivo, se midió el color a los extractos obtenidos del diseño factorial 2^3 (Tabla 4) utilizando un espectrofotómetro marca Konica Minolta, Modelo: CM-700D. Las mediciones se realizaron en los Laboratorios Generales-Laboratorios de Química de la Universidad Nacional de Juliaca, donde se midió el color en el espacio CIELAB (L^*a^*b), midiendo los valores L , a y b . Se calculó la saturación (C) y el tono de saturación ($^{\circ}h$) utilizando las ecuaciones (1) y (2) respectivamente.

a. Identificación de variables

Variables independientes

- Tiempo de extracción (h).
- Concentración de etanol (%).
- Peso de quinua (g)

Variables dependientes

- Color de extracto obtenido.

b. Análisis estadístico

1. Diagrama de Pareto y efecto de las variables

El diagrama de Pareto se utiliza para visualizar si las variables o sus interacciones tienen un mayor impacto sobre la variable respuesta en un diseño experimental. El efecto de una variable se define como el cambio en la respuesta producido por un cambio en el nivel del factor (Montgomery, 2004). Para graficar el diagrama de Pareto y los efectos principales se utilizó el paquete estadístico STATGRAPHICS Centurion XVI Versión 16.1.18.

2. Análisis de varianza

- a) **Grados de libertad (GL).** Los grados de libertad se determinaron según Montgomery (2004).

Grados de libertad del modelo (GL_{Modelo}). Se determinó utilizando la siguiente expresión:

$$GL_{Modelo} = GL_{Lineal} + GL_{\substack{\text{Interacciones} \\ \text{de 2 términos}}} + GL_{\substack{\text{Interacciones} \\ \text{de 3 términos}}} \quad (6)$$

Los grados de libertad lineal (GL_{Lineal}), de las interacciones de 2 términos ($GL_{\substack{\text{Interacciones} \\ \text{de 2 términos}}}$) y las interacciones de 3 términos ($GL_{\substack{\text{Interacciones} \\ \text{de 3 términos}}}$) fueron calculadas con las siguientes ecuaciones:

$$GL_{Lineal} = \sum GL_{x_i} \quad (7)$$

$$GL_{x_1} = (a - 1); \quad GL_{x_2} = (b - 1); \quad GL_{x_3} = (c - 1) \quad (8)$$

$$GL_{\substack{\text{Interacciones} \\ \text{de 2 términos}}} = \sum GL_{x_i x_j} \quad (9)$$

$$GL_{x_1 x_2} = (a - 1)(b - 1), \quad GL_{x_1 x_3} = (a - 1)(c - 1), \quad GL_{x_2 x_3} = (b - 1)(c - 1) \quad (10)$$

$$GL_{\substack{\text{Interacciones} \\ \text{de 3 términos}}} = \sum GL_{x_i x_j x_k} \quad (11)$$

$$GL_{x_1 x_2 x_3} = (a - 1)(b - 1)(c - 1) \quad (12)$$

Donde a , b y c son el número de niveles de las variables de estudio x_1 , x_2 y x_3 respectivamente.

Grados de libertad del total (GL_T). Es igual al número de experimentos total (N_T) menos la unidad.

$$GL_T = N_T - 1 \quad (13)$$

Grados de libertad del error (GL_E). Se determinó sumando los grados de libertad de la falta de ajuste (GL_{FA}) y los grados de libertad del error puro (GL_{EP}):

$$GL_E = GL_T - GL_{Lineal} - GL_{\substack{\text{Interacciones} \\ \text{de 2 términos}}} - GL_{\substack{\text{Interacciones} \\ \text{de 3 términos}}} \quad (14)$$

Los grados de libertad de la falta de ajuste (GL_{FA}) se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$GL_{FA} = GL_E - GL_{EP} \quad (15)$$

Los grados de libertad del error puro (GL_{EP}) es igual al número de replicas en el centro del diseño (n_0) menos la unidad.

$$GL_{EP} = n_0 - 1 \quad (16)$$

b) Suma de cuadrados (SC). La suma de cuadrados se determinó según Montgomery (2004).

Suma de cuadrados del modelo (SC_{Modelo}). Se calculó empleando la siguiente expresión:

$$SC_{Modelo} = SC_{Lineal} + SC_{\substack{\text{Interacciones} \\ \text{de 2 términos}}} + SC_{\substack{\text{Interacciones} \\ \text{de 3 términos}}} \quad (17)$$

La suma de cuadrados lineal (SC_{Lineal}), de las interacciones de 2 términos ($SC_{\substack{\text{Interacciones} \\ \text{de 2 términos}}}$) y de las interacciones de 3 términos ($SC_{\substack{\text{Interacciones} \\ \text{de 3 términos}}}$) se calcularon con las siguientes ecuaciones:

$$SC_{Lineal} = \sum SC_{x_i} \quad (18)$$

$$SC_{x_i} = \frac{\left(\sum_{i=1}^N x_i y_i \right)^2}{(N)(r)} \quad (19)$$

$$SC_{\substack{\text{Interacciones} \\ \text{de 2 términos}}} = \sum SC_{x_i x_j} \quad (20)$$

$$SC_{x_i x_j} = \frac{\left(\sum_{i=1, j=1}^N (x_i x_j) y_i \right)^2}{(N)(r)} \quad (21)$$

$$SC_{\substack{\text{Interacciones} \\ \text{de 3 términos}}} = \sum SC_{x_i x_j x_k} \quad (22)$$

$$SC_{x_i x_j x_k} = \frac{\left(\sum_{i=1, j=1, k=1}^N (x_i x_j x_k) y_i \right)^2}{(N)(r)} \quad (23)$$

Donde x_i , $x_i x_j$ y $x_i x_j x_k$ son los términos lineales e interacciones, y_i la variable respuesta, N es el número de experimentos sin incluir las réplicas en el centro y r el número de réplicas al diseño.

Suma de cuadrados del error (SC_E). Se determinó usando la siguiente expresión matemática:

$$SC_E = SC_T - SC_{Lineal} - SC_{\substack{\text{Interacciones} \\ \text{de 2 términos}}} - SC_{\substack{\text{Interacciones} \\ \text{de 3 términos}}} \quad (24)$$

La suma de cuadrados de la falta de ajuste (SC_{FA}) y la suma de cuadrados del error puro (SC_{EP}) fueron calculados utilizando las siguientes ecuaciones según Ayala y Pardo (1995):

$$SC_{FA} = SC_E - SC_{EP} \quad (25)$$

$$SC_{EP} = \sum_{i=1}^{n_0} \left(Y_i^0 - \overline{Y^0} \right)^2 \quad (26)$$

Donde Y_i^0 y $\overline{Y^0}$ son las variables respuesta del punto central y el promedio de las variables respuesta en el punto central respectivamente.

Suma de cuadrados total (SC_T). La suma cuadrados total se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$SC_T = \sum_{i=1}^N y_i^2 - \frac{\left(\sum_{i=1}^N y_i \right)^2}{N_T} \quad (27)$$

Donde y_i y N_T es la variable respuesta y el número de experimentos total respectivamente.

c) Cuadrado medio (CM)

El cuadrado medio de las distintas fuentes de variación fueron calculados utilizando las siguientes ecuaciones:

$$CM_{Modelo} = \frac{SC_{Modelo}}{GL_{Modelo}} \quad (28)$$

$$CM_{Lineal} = \frac{SC_{Lineal}}{GL_{Lineal}} \quad (29)$$

$$CM_{Ejetos\ lineales} = \frac{SC_{Ejetos\ lineales}}{GL_{Ejetos\ lineales}} \quad (30)$$

$$CM_{Interacciones\ de\ 2\ términos} = \frac{SC_{Interacciones\ de\ 2\ términos}}{GL_{Interacciones\ de\ 2\ términos}} \quad (31)$$

$$CM_{Interacciones\ de\ 2\ variables} = \frac{SC_{Interacciones\ de\ 2\ variables}}{GL_{Interacciones\ de\ 2\ variables}} \quad (32)$$

$$CM_{Interacciones\ de\ 3\ términos} = \frac{SC_{Interacciones\ de\ 3\ términos}}{GL_{Interacciones\ de\ 3\ términos}} \quad (33)$$

$$CM_{Interacciones\ de\ 3\ variables} = \frac{SC_{Interacciones\ de\ 3\ variables}}{GL_{Interacciones\ de\ 3\ variables}} \quad (34)$$

$$CM_E = \frac{SC_E}{GL_E} \quad (35)$$

$$CM_{FA} = \frac{SC_{FA}}{GL_{FA}} \quad (36)$$

$$CM_{EP} = \frac{SC_{EP}}{GL_{EP}} \quad (37)$$

La verificación de la significancia del modelo, los efectos, interacciones y la falta de ajuste se realizó mediante el teorema de Cochran, según la Ecuación (38).

$$F_0 = \frac{\frac{SC}{GL}}{\frac{SC_E}{GL_E}} = \frac{CM}{CM_E} \quad (38)$$

Por lo tanto, un efecto, interacción y la falta de ajuste es significativo si cumple la siguiente desigualdad (Ayala y Pardo, 1995):

$$F_0 > F_{(\alpha, f_1, f_2)} \quad (39)$$

Donde F_0 y $F_{(\alpha, f_1, f_2)}$ son los estadísticos Fisher calculado y obtenidos de tablas de distribución (Anexo 6).

En la Tabla 5 se muestra el análisis de varianza realizado para el modelo de regresión representado por la Ecuación (5).

Tabla 5. Análisis de varianza para el diseño factorial 2³

Fuente de variación	GL	SC	CM	F₀
<i>Modelo</i>	GL_{Modelo}	SC_{Modelo}	CM_{Modelo}	CM_{Modelo} / CM_E
<i>Lineal</i>	GL_{Lineal}	SC_{Lineal}	CM_{Lineal}	CM_{Lineal} / CM_E
<i>Efectos lineales</i>	$GL_{Efectos\ lineales}$	$SC_{Efectos\ lineales}$	$CM_{Efectos\ lineales}$	$CM_{Efectos\ lineales} / CM_E$
<i>Interacciones de 2 términos</i>	$GL_{Interacciones\ de\ 2\ términos}$	$SC_{Interacciones\ de\ 2\ términos}$	$CM_{Interacciones\ de\ 2\ términos}$	$CM_{Interacciones\ de\ 2\ términos} / CM_E$
<i>Interacción de 2 variables</i>	$GL_{Interacciones\ de\ 2\ variables}$	$SC_{Interacciones\ de\ 2\ variables}$	$CM_{Interacciones\ de\ 2\ variables}$	$CM_{Interacciones\ de\ 2\ variables} / CM_E$
<i>Interacciones de 3 términos</i>	$GL_{Interacciones\ de\ 3\ términos}$	$SC_{Interacciones\ de\ 3\ términos}$	$CM_{Interacciones\ de\ 3\ términos}$	$CM_{Interacciones\ de\ 3\ términos} / CM_E$
<i>Interacción de 3 variables</i>	$GL_{Interacciones\ de\ 3\ variables}$	$SC_{Interacciones\ de\ 3\ variables}$	$CM_{Interacciones\ de\ 3\ variables}$	$CM_{Interacciones\ de\ 3\ variables} / CM_E$
<i>Error</i>	GL_E	SC_E	CM_E	
<i>Falta de ajuste</i>	GL_{FA}	SC_{FA}	CM_{FA}	CM_{FA} / CM_E
<i>Error puro</i>	GL_{EP}	SC_{EP}	CM_{EP}	
<i>Total</i>	GL_T	SC_T		

3. Evaluación del modelo

Los estadísticos más útiles para medir la calidad global del modelo de regresión es el coeficiente de determinación (R^2) y el coeficiente de determinación ajustado (R_{aj}^2), que se obtienen a partir del análisis de varianza de la siguiente manera (Gutierrez Pulido, 2010):

$$R^2 = \frac{SC_T - SC_E}{SC_T} \times 100 \quad (40)$$

$$R_{aj}^2 = \frac{CM_T - CM_E}{CM_T} \times 100 \quad (41)$$

$$CM_T = \frac{SC_T}{GL_T} \quad (42)$$

Tabla 6. Indicadores estadísticos.

Fuente de variación	<i>GL</i>	<i>SC</i>	<i>CM</i>	Estadístico	
Error	GL_E	SC_E	CM_E	R^2	R_{aj}^2
Total	GL_T	SC_T	CM_T		

4. Análisis gráfico

Para graficar las superficies de respuesta y los gráficos de contorno análisis, se utilizó el paquete estadístico STATISTICA Versión 10.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS EN LA EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE BETALAÍNAS

Para el estudio de los parámetros fisicoquímicos, el diseño factorial estuvo conformada de 3 variables, 2 niveles y 3 réplicas en el centro. Para la extracción de betalaínas de la quinua variedad INIA 420- Negra Collana (*Chenopodium quinoa* Willd.) por el método de Soxhlet, las variables en estudio fueron el peso de quinua (w), tiempo de extracción (t) y la concentración de etanol (c); la variable respuesta fue la concentración de betalaínas (CB) que se calculó a partir de las lecturas de absorbancia de la Tabla 15 (Anexo 2) empleando la Ecuación (46).

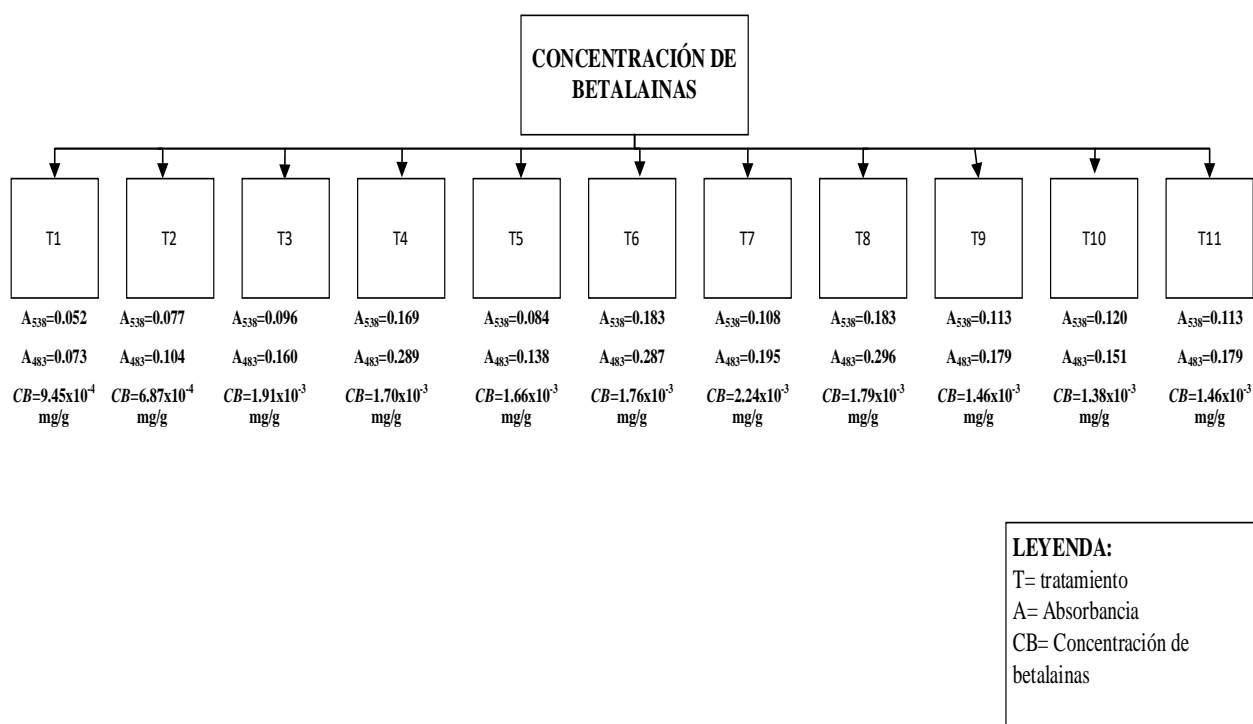


Figura 10. Tratamientos del diseño experimental para la concentración de betalaínas.

Los resultados del diseño factorial para la concentración de betalainas se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7. Diseño factorial para la concentración de betalainas (CB) extraída.

N°	w (g)	t (h)	c (%)	CB (mg/g)
1	10	1	10	9.45×10^{-4}
2	20	1	10	6.87×10^{-4}
3	10	3	10	1.91×10^{-3}
4	20	3	10	1.70×10^{-3}
5	10	1	30	1.66×10^{-3}
6	20	1	30	1.76×10^{-3}
7	10	3	30	2.24×10^{-3}
8	20	3	30	1.79×10^{-3}
9	15	2	20	1.46×10^{-3}
10	15	2	20	1.38×10^{-3}
11	15	2	20	1.46×10^{-3}

En la Tabla 7 se destaca que la mínima y máxima concentración de betalainas extraídas de la quinua se obtuvieron en el experimento N° 2 (6.87×10^{-4} mg/g) y experimento N° 7 (2.24×10^{-3} mg/g) respectivamente.

Las muestras obtenidas producto de la extracción de betalainas de la quinua presentaron una gama de colores de amarillo a rojo. Marañón *et al.* (2011) sostiene que el color de estos compuestos químicos se les atribuye a sus dobles enlaces conjugados como se muestra en la Figura 11.

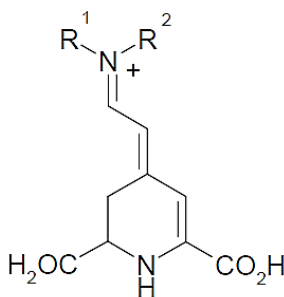


Figura 11. Estructura de la betalaina

FUENTE: Marañón *et al.* (2011).

Luego de la determinación de betalaínas en los extractos, las muestras fueron concentradas en un rotavapor para posteriormente almacenarlas a 4 °C, según Flores *et al.* (2019) las betalaínas presentan mayor estabilidad a bajas temperaturas.

4.1.1. Análisis estadístico para el diseño factorial 2³

a) Diagrama de Pareto

En la Figura 12, se muestra el diagrama de Pareto en el cual se representan los efectos estandarizados para un nivel de confianza del 95% ($p = 0.05$).

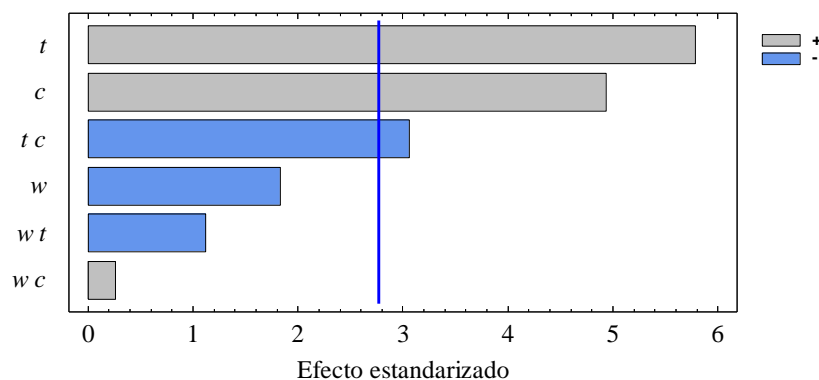


Figura 12. Diagrama de Pareto para la concentración de betalaínas (CB).

En la Figura 12, se observa que los factores tiempo de extracción (t), concentración de etanol (c) y la interacción tiempo de extracción-concentración de etanol (tc) son los más significativos. La variable peso de quinua (w) y las interacciones peso de quinua-tiempo de extracción (wt) y peso de quinua-concentración de etanol (wc) no fueron significativas en el proceso de extracción de betalaínas.

En los estudios realizados por Tarazona *et al.* (2020), para la obtención de colorantes a partir de la corteza de maracuyá mediante la utilización de equipos soxhlet; observaron que a altas concentraciones de etanol (80-90%), tiempos de extracción de 90 a 150 minutos y proporciones de solvente-materia prima de 40:1 y 50:1 obtuvieron más cantidad de colorantes.

En la presente investigación se utilizaron concentraciones de etanol en el rango de 10-30%, tiempos de extracción de 60 a 180 minutos y proporciones de solvente-materia prima de 30:1 y 30:2 para la extracción de colorantes (betalaínas), se observó que al emplear altas concentraciones de etanol no se extrajeron estos colorantes y los tiempos de extracción se

asemejan a los empleados por (Tarazona et al., 2020), en relación a la proporción solvente-materia prima no fue significativa como se visualiza en el diagrama de Pareto.

b) Estimación de efectos

El gráfico de los efectos principales o variables como el peso de quinua (w), tiempo de extracción (t) y concentración de etanol (c) para el proceso de extracción de betalaínas de la quinua se muestra en la Figura 13.

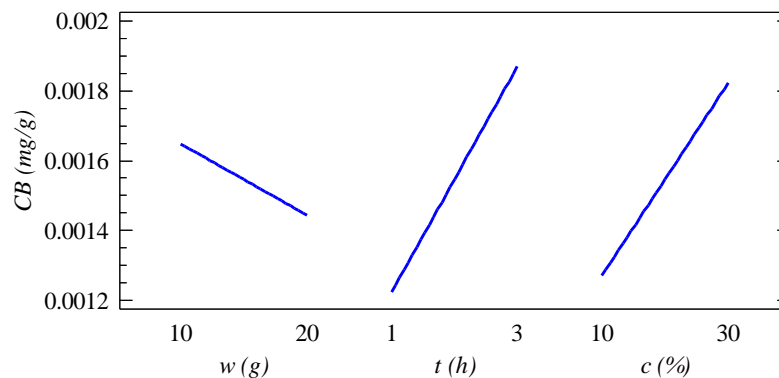


Figura 13. Gráfica de efectos principales para la concentración de betalaínas (CB).

En la Figura 13, se observa que la variable peso de quinua (w) es inversamente proporcional a la concentración de betalaínas (CB) esto quiere decir que al incrementar el peso de 10 a 20 g provoca una disminución en la concentración de betalaínas. Respecto a las variables tiempo de extracción (t) y concentración de etanol (c) son directamente proporcionales a concentración de betalaínas es decir que al incrementar de un nivel inferior a un nivel superior estas variables aumentarán también las concentraciones de betalaínas extraídas.

Como se apreció en el diagrama de Pareto la variable peso de quinua (w), al incrementar los pesos utilizados en los experimentos no tuvieron un efecto positivo en la extracción de colorantes (betalaínas), al tener mayor cantidad de quinua en el cartucho colocados en la cámara de extracción del equipo soxhlet el contacto con el agente extractante (etanol) es deficiente; razón por la cual se obtienen bajas concentraciones de betalaínas cuando se utilizan pesos de quinua igual a 20 g.

En la investigación realizada por Hañari (2008) para la extracción de colorante a partir de hojas de espina por el método de extracción sólido-líquido (método soxhlet) empleando

como solvente alcohol al 96% de concentración. Encontró que empleando un tiempo de extracción de 60 minutos y utilizando 2 a 10 g de hojas de espinaca obtuvo un rendimiento del 98.57%. En los experimentos, la cantidad de materia prima representó la variable de mayor significancia en el proceso de extracción de colorante obteniendo altos rendimientos.

c) Estimación de interacciones

En la Figura 14, se representa la gráfica de las interacciones para la concentración de betalaínas (*CB*) extraídas de la quinua.

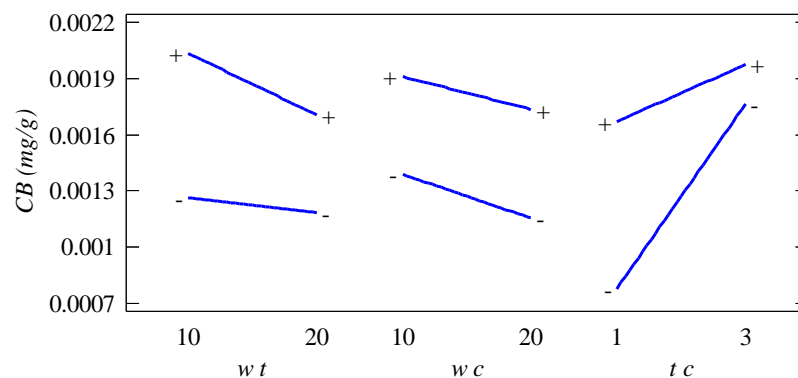


Figura 14. Gráfica de interacción para la concentración de betalaínas (*CB*).

Cuando existe interacción entre variables quiere decir que se ejerce una acción o relación recíproca de 2 o más variables. En otras palabras, estas variables suelen tener algo en común o están relacionadas.

Según la Figura 14, se destaca que existe interacción entre las variables tiempo de extracción-concentración de etanol (*tc*) dichas rectas pueden llegar a interceptarse en algún punto, esta interacción es la más importante en el proceso de extracción de betalaínas, esta nos indica que el tiempo de extracción presenta una afectación distinta al interactuar con una concentración de etanol distinta y viceversa. Así mismo, existe una mínima interacción entre las variables peso de quinua-tiempo de extracción (*wt*) ya que dichas rectas pudieran interceptarse en algún punto. Por otro lado, no existe interacción entre las variables peso de quinua-concentración de etanol (*wc*), sus rectas no se interceptarán por ser paralelas.

d) Modelo de regresión

En primer lugar, el diseño factorial para la concentración de betalaínas (*CB*) extraída (Tabla 10) fueron codificadas como se detalla en el Anexo 2. Seguidamente, se utilizó la Ecuación (43) para calcular los coeficientes del modelo de regresión (Ecuación 3), los cálculos se muestran en el Anexo 3.

El modelo de regresión en términos de sus variables codificadas para el peso de quinua (x_1), tiempo de extracción (x_2) y concentración de etanol (x_3) fue la siguiente:

$$y = 1.54 \times 10^{-3} - 1.02 \times 10^{-4} x_1 + 3.24 \times 10^{-4} x_2 + 2.76 \times 10^{-4} x_3 - 6.28 \times 10^{-5} x_1 x_2 + 1.48 \times 10^{-5} x_1 x_3 - 1.71 \times 10^{-4} x_2 x_3 - 7.48 \times 10^{-5} x_1 x_2 x_3 \quad (43)$$

La decodificación de la Ecuación (37) se realizó reemplazando las Ecuaciones (48), (49) y (50) que se detalla en el Anexo 3.

La ecuación del modelo de regresión para la concentración de betalaínas (*CB*) en términos de sus variables naturales fue la siguiente:

En la Tabla 8 se muestra las concentraciones de betalaínas (*CB*) calculadas con el modelo de regresión determinado (Ecuación 44).

Tabla 8. Concentración de betalaínas (*CB*) determinadas con el modelo de regresión

N°	w (g)	t (h)	c (%)	CB (mg/g)
1	10	1	10	9.03×10^{-4}
2	20	1	10	6.46×10^{-4}
3	10	3	10	1.87×10^{-3}
4	20	3	10	1.66×10^{-3}
5	10	1	30	1.62×10^{-3}
6	20	1	30	1.72×10^{-3}
7	10	3	30	2.20×10^{-3}
8	20	3	30	1.76×10^{-3}
9	15	2	20	1.55×10^{-3}
10	15	2	20	1.55×10^{-3}
11	15	2	20	1.55×10^{-3}

Los niveles de las variables peso de quinua (w), tiempo de extracción (t) y concentración de etanol (c) que maximizan la concentración de betalaínas (CB) extraídas de la quinua variedad INIA 420-Negra Collana (*Chenopodium quinoa* Willd) por el método de Soxhlet se muestra en la Tabla 9.

Tabla 9. Niveles de las variables que maximizan la concentración de betalaínas (CB)

<i>Peso de quinua, w (g)</i>	<i>Tiempo de extracción, t (h)</i>	<i>Concentración de etanol, c (%)</i>	<i>Concentración de betalaínas, CB (mg/g)</i>
10	3	30	2.20×10^{-3}

En la investigación realizada por Aguilar y Mamani (2017) para la obtención de colorante de quinua, obtuvieron un total de 201.01 mg de betalaínas por cada 100 g de peso fresco de muestra por agitación utilizando agua como agente para la extracción, por lo que se obtiene altos concentraciones de colorantes ya que en estos procesos se tiene un mayor mncontacto de la materia prima con el agua. En esta investigación con el modelo de regresión se obtiene una concentración de betalaínas igual a 2.20×10^{-3} mg/g de quinua, concluyendo que el método de extracción de colorantes de quinua utilizando el equipo soxhlet no fue eficaz a comparación del método de agitación.

e) **Análisis de varianza**

En la Tabla 10, se muestra el análisis de varianza para la concentración de betalaínas (*CB*) extraídas de la quinua. En el análisis de varianza, se evaluó la significancia de todos los efectos e interacciones del modelo de regresión obtenido para un nivel de probabilidad del 5%.

Tabla 10. Análisis de varianza para la concentración las betalaínas (*CB*).

Fuente de variación	GL	SC	CM	F₀
<i>Modelo</i>	7	1.84 x 10 ⁻⁶	2.63 x 10 ⁻⁷	14.24
<i>Lineal</i>	3	1.53 x 10 ⁻⁶	5.10 x 10 ⁻⁷	27.60
<i>x₁: w</i>	1	8.36 x 10 ⁻⁸	8.36 x 10 ⁻⁸	4.53
<i>x₂: t</i>	1	8.37 x 10 ⁻⁷	8.37 x 10 ⁻⁷	45.29
<i>x₃: c</i>	1	6.09 x 10 ⁻⁷	6.09 x 10 ⁻⁷	32.97
<i>Interacciones de 2 términos</i>	3	2.67 x 10 ⁻⁷	8.91 x 10 ⁻⁸	4.82
<i>x₁x₂</i>	1	3.15 x 10 ⁻⁸	3.15 x 10 ⁻⁸	1.70
<i>x₁x₃</i>	1	1.74 x 10 ⁻⁹	1.74 x 10 ⁻⁹	0.09
<i>x₂x₃</i>	1	2.34 x 10 ⁻⁷	2.34 x 10 ⁻⁷	12.66
<i>Interacciones de 3 términos</i>	1	4.47 x 10 ⁻⁸	4.47 x 10 ⁻⁸	2.42
<i>x₁x₂x₃</i>	1	4.47 x 10 ⁻⁸	4.47 x 10 ⁻⁸	2.42
<i>Error</i>	3	5.55 x 10 ⁻⁸	1.85 x 10 ⁻⁸	
<i>Falta de ajuste</i>	1	5.12 x 10 ⁻⁸	5.12 x 10 ⁻⁸	23.99
<i>Error puro</i>	2	4.27 x 10 ⁻⁹	2.13 x 10 ⁻⁹	
<i>Total</i>	10	1.90 x 10 ⁻⁶		

Los cálculos para el análisis de varianza se detallan en el Anexo 5, para ello se utilizaron las Ecuaciones (6) a (39) para la determinación de los grados de libertad (*GL*), suma de cuadrados (*SC*), cuadrado medio (*CM*) y estadístico Fisher (*F₀*).

Según la Tabla de puntos porcentuales de la distribución *F* (Anexo 6), para un nivel de confianza del 95%, grados de libertad del numerador (*v₁*) 1 (efectos e interacciones) y grados de libertad del denominador (*v₂*) 3 (error) el estadístico *F_{0.05,1,3}* es igual a 10.13.

Por consiguiente, comparando el estadístico *F_{0.05,1,3}* con los resultados de *F₀* de la Tabla 10 de análisis de varianza se observa que:

- El modelo ajustado es significativo ya que el estadístico F_0 calculado es mayor que el $F_{0.05,1,3}$ ($F_0 > F_{0.05,1,3}$).
- En cuanto a los efectos lineales el estadístico F_0 calculado es mayor que el $F_{0.05,1,3}$ ($F_0 > F_{0.05,1,3}$). En la cual, las variables como el tiempo de extracción (x_2), concentración de etanol (x_3) fueron significativas ($F_0 > F_{0.05,1,3}$) y la variable peso de quinua (x_1) no fue significativa ($F_0 < F_{0.05,1,3}$).
- Las interacciones de 2 términos no fueron significativas ($F_0 < F_{0.05,1,3}$). Pero dentro de ello la interacción x_2x_3 fue significativa ($F_0 > F_{0.05,1,3}$).
- La interacción de 3 términos no fue significativa. Por lo tanto, la interacción $x_1x_2x_3$ también no fue significativa ($F_0 < F_{0.05,1,3}$).
- Siendo no significativas ($F_0 < F_{0.05,1,3}$), el peso de quinua (w), las interacciones wt , wc y wtc .

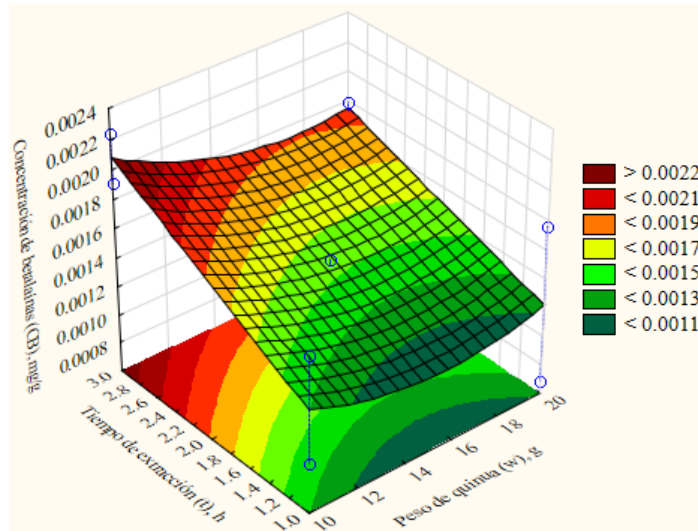
Entonces, el modelo de regresión (Ecuación 44) se reduce a la siguiente expresión en términos de sus variables naturales:

$$CB = 5.77 \times 10^{-4} + 4.05 \times 10^{-4} t + 1.25 \times 10^{-5} c + 5.33 \times 10^{-6} tc \quad (45)$$

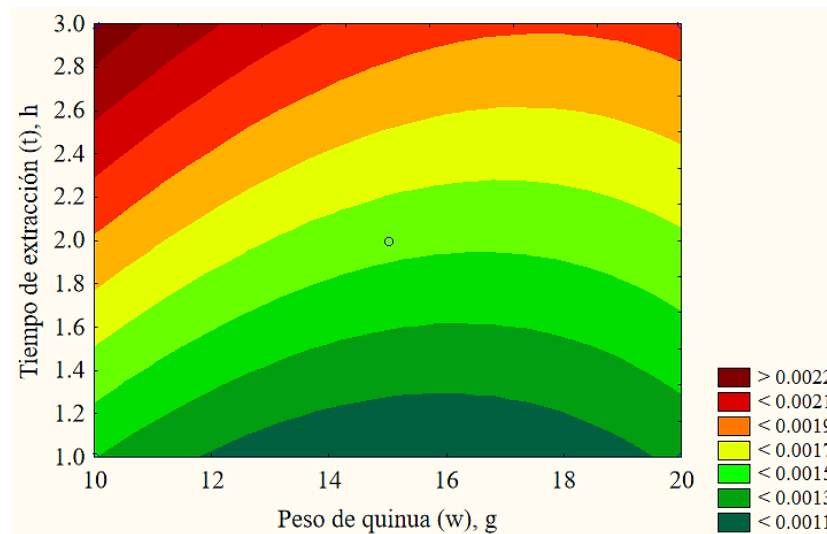
Esta ecuación representa el modelo de regresión de la concentración de betalaínas (CB) extraídas de la quinua variedad INIA 420-Negra Collana (*Chenopodium quinoa* Willd.) por el método Soxhlet.

f) Superficie de respuesta y gráfico de contorno

En las Figuras 15 a 17 se representan las superficies de respuesta y gráficos de contorno de la Ecuación (38) para la concentración de betalaínas (CB) extraídas por el método de soxhlet.



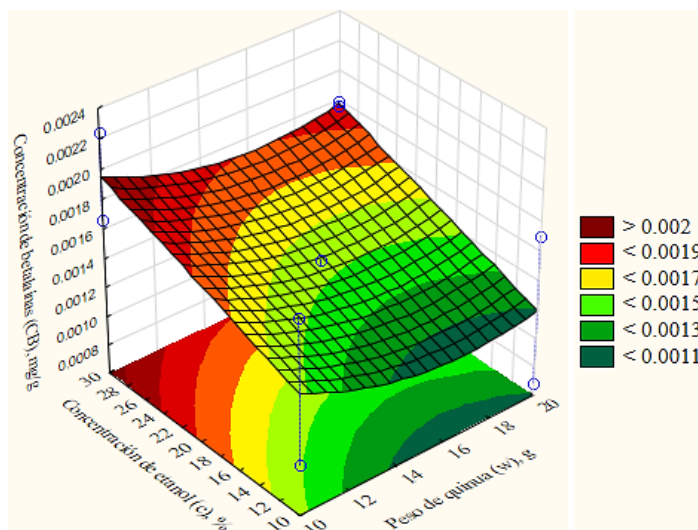
a) Superficie de respuesta



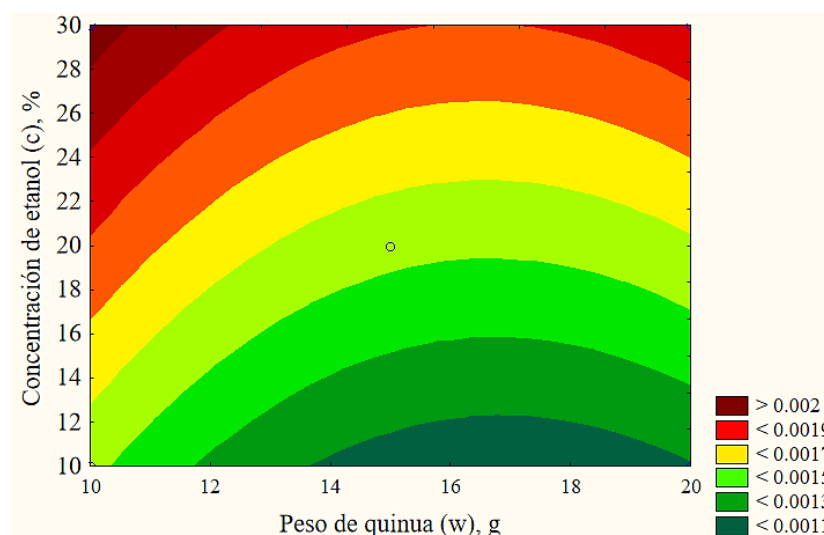
b) Grafica de contorno

Figura 15. Efecto del peso de quinua y tiempo de extracción para la concentración de betalaínas (CB): $c = 20\%$.

En la Figura 15 se representa la superficie de respuesta y la gráfica de contorno para la concentración de betalaína extraídas manteniendo constante la concentración de etanol (c) de 20%, donde se visualiza que se obtiene concentraciones de betalaínas (CB) mayores a 2.2×10^{-3} mg/g cuando se utilizan pesos de quinua de 10 a 10.5 g y tiempo de extracción de 2.8 a 3.0 horas.



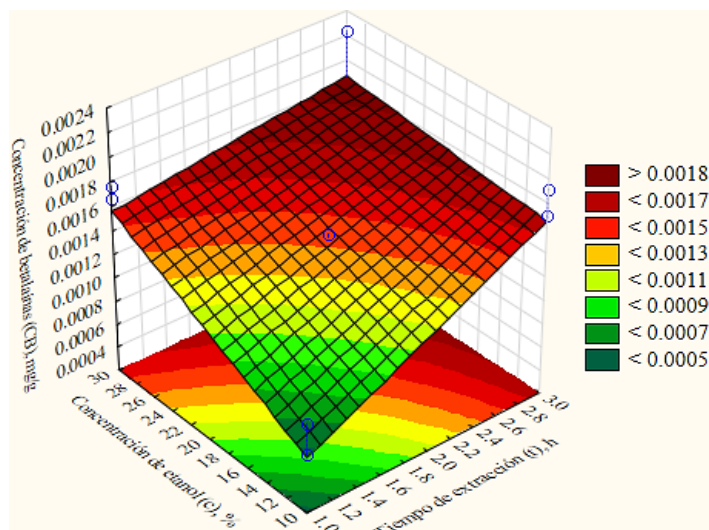
a) Superficie de respuesta



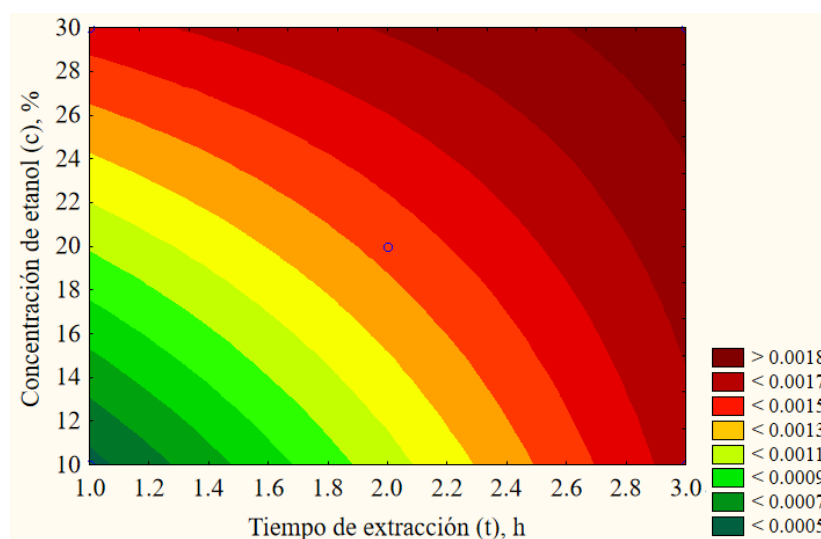
b) Grafica de contorno

Figura 16. Efecto del peso de quinua y concentración de etanol para la concentración de betalaínas (CB): $t = 2$ h.

En la Figura 16 se representa la superficie de respuesta y la gráfica de contorno para la extracción de betalaína manteniendo constante el tiempo de extracción (t) de 2 h, se observa que se obtienen concentraciones de betalaínas (CB) mayores a 2.00×10^{-3} mg/g cuando se emplean pesos de quinua de 10 a 10.5 g y concentración de etanol (c) de 28 a 30%.



a) Superficie de respuesta



b) Grafica de contorno

Figura 17. Efecto del tiempo del extracción y concentración de etanol para la concentración de betalaínas (CB): $w = 15$ g

En la Figura 17 se representa la superficie de respuesta y la gráfica de contorno para la extracción de betalaína manteniendo constante el peso de quinua (w) de 15 g, bajo estas condiciones de operación se obtienen concentraciones de betalaínas (CB) mayores a 1.18×10^{-3} mg/g empleando un tiempo de extracción de 2.7 a 3.0 horas y concentración de etanol de 25 a 30%.

g) Validación del modelo

Se verificó el grado de ajuste de los datos experimentales al modelo de regresión (Ecuación 5) utilizando los estadísticos como el coeficiente de determinación (R^2) y el coeficiente de determinación ajustado (R_{aj}^2). Para ello, se elaboró la Tabla 11 con los resultados obtenidos de los grados de libertad (GL), suma de cuadrados (SC) y cuadrado medio (CM) de la fuente de variación error y total calculados en el análisis de varianza (Tabla 10).

Tabla 11. Ajuste del modelo de regresión para la concentración de betalaínas (CB).

Fuente de variación	GL	SC	CM	Estadístico	
				R^2	R_{aj}^2
Error	3	5.55×10^{-8}	1.85×10^{-8}	97.078	90.259
Total	10	1.90×10^{-6}	1.90×10^{-7}		

En la Tabla 11 se observa que el coeficiente de determinación (R^2) es igual a 97.078 y el coeficiente de determinación ajustado (R_{aj}^2) es igual a 90.259. En consecuencia, analizando estas cifras de los resultados obtenidos se puede afirmar que el modelo de regresión se ajusta a los datos experimentales y predice la concentración de betalaínas (CB) extraídas de la quinua variedad INIA 420-Negra Collana (*Chenopodium quinoa* Willd.) por el método Soxhlet.

4.2. EVALUACION COLORIMÉTRICA DE LOS EXTRACTOS

La evaluación colorimétrica se realizó a los extractos obtenidos de los 11 experimentos realizados según el diseño factorial 2^3 , mediante el sistema CIELab. Los resultados se muestran en la Tabla 12:

Tabla 12. Coordenadas CIELab de las betalainas extraídas.

N°	w (g)	t (h)	c (%)	Variables de color		
				L	a	b
1	10	1	10	43.9	60.6	35.3
2	20	1	10	32.3	48.6	29.2
3	10	3	10	29.6	47.6	70.2
4	20	3	10	38.4	47.8	27.4
5	10	1	30	26.2	43.3	20.8
6	20	1	30	33.0	40.4	24.7
7	10	3	30	23.6	34.1	58.9
8	20	3	30	39.1	22.8	11.8
9	15	2	20	30.1	46.8	36.1
10	15	2	20	29.8	48.1	31.4
11	15	2	20	28.9	43.2	30.0

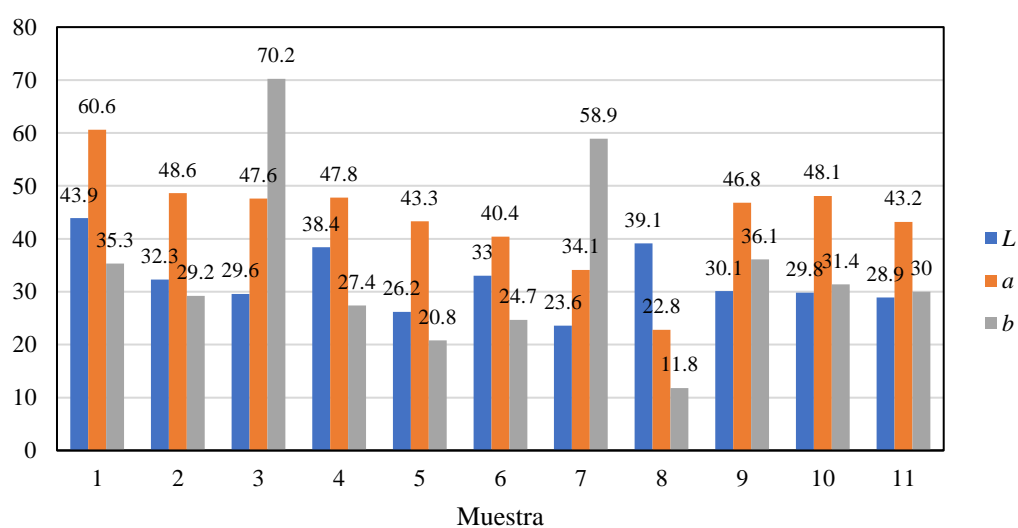


Figura 18. Parámetros de color para cada una de las muestras de extractos obtenidos.

En la Figura 18 se aprecia las columnas de cada parámetro de color. En relación a la luminosidad (L) de color de los extractos obtenidos ($L = 0$ indica negro y $L = 100$ indica blanca), en este trabajo fue alto en la muestra N° 1 ($L = 43.9$) por lo que tiende a tener más claridad y se obtuvo una luminosidad baja en la muestra N° 7 ($L = 23.6$) es decir el extracto obtenido tiene menos claridad. Observando el valor de a el cual representa la coordenada verde/rojo, podemos notar que la muestra N° 1 ($a = 60.6$) presenta una coloración roja y la muestra N° 8 ($a = 22.8$) presenta coloración que tiende al verde. En cuanto al parámetro b que representa la coloración azul/amarillo, se destaca que la muestra N° 3 ($b = 70.2$) tiene una coloración amarilla y la muestra N° 8 ($b = 11.8$) presenta una coloración con tendencia al azul.

El croma (C) o saturación de color, se refiere al grado de pureza que tiene un color perteneciente a un mismo tono y un mismo valor, es decir describe lo llamativo o lo apagado de un color, tan cerca está el color ya sea al gris o al matiz puro, los colores en el centro son grises (apagados) y conforme avanzamos hacia la periferia se vuelven más saturados (vivos). La saturación de color (C) se determinó utilizando la Ecuación (1). Los resultados para las 11 muestras de los experimentos de diseño factorial 2^3 se presentan en la Tabla 13.

Tabla 13. Saturación de color (C) de las betalaínas extraídas.

N°	w (g)	t (h)	c (%)	<i>Variables de color</i>		Saturación de color (C)
				a	b	
1	10	1	10	60.6	35.3	70.13
2	20	1	10	48.6	29.2	56.70
3	10	3	10	47.6	70.2	84.82
4	20	3	10	47.8	27.4	55.10
5	10	1	30	43.3	20.8	48.04
6	20	1	30	40.4	24.7	47.35
7	10	3	30	34.1	58.9	68.06
8	20	3	30	22.8	11.8	25.67
9	15	2	20	46.8	36.1	59.11
10	15	2	20	48.1	31.4	57.44
11	15	2	20	43.2	30.0	52.60

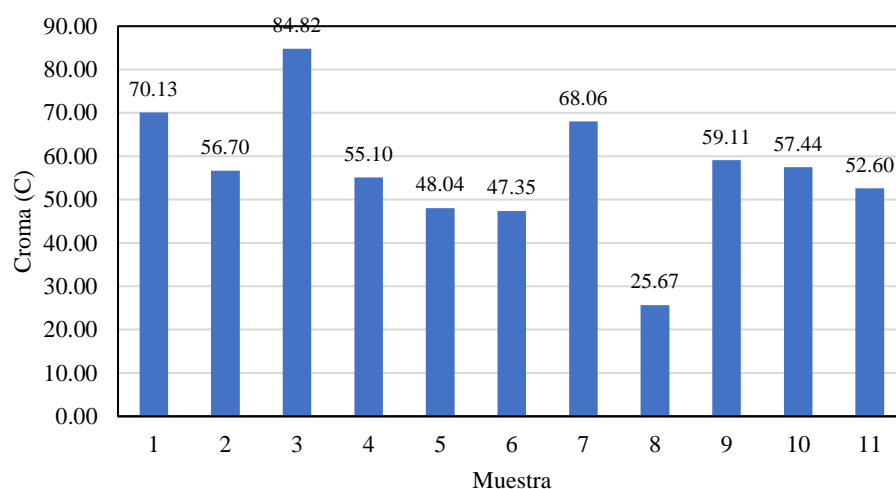


Figura 19. Color de saturación para cada una de las muestras de extractos obtenidos.

Según la Figura 19, la muestra N° 3 presenta un color de saturación alto, es decir tiene un color más vivo ($C = 84.82$) que tiende al rojo. La muestra N° 8 tiene un color de saturación más bajo ($C = 25.67$) en relación a las demás muestras, esto indica que tiene un color más apagado que tiende al gris.

En la Tabla 14 se presenta los tonos de colores para las 11 muestras obtenidas del diseño factorial 2^3 .

Tabla 14. Tono de color ($^{\circ}h$) de las betalainas extraídas.

N°	w (g)	t (h)	c (%)	Variables de color		Tono de color ($^{\circ}h$)
				a	b	
1	10	1	10	60.6	35.3	30.22
2	20	1	10	48.6	29.2	31.00
3	10	3	10	47.6	70.2	55.86
4	20	3	10	47.8	27.4	29.82
5	10	1	30	43.3	20.8	25.66
6	20	1	30	40.4	24.7	31.44
7	10	3	30	34.1	58.9	59.93
8	20	3	30	22.8	11.8	27.36
9	15	2	20	46.8	36.1	37.65
10	15	2	20	48.1	31.4	33.14
11	15	2	20	43.2	30.0	34.78

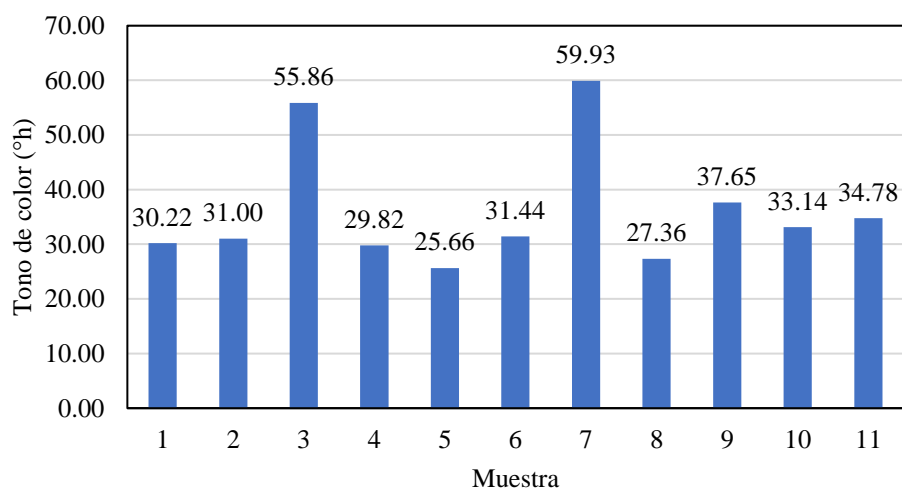


Figura 20. Color de saturación para cada una de las muestras de extractos obtenidos.

El tono de color ($^{\circ}h$) se refiere al ángulo del tono y se expresa en grados que van de 0° a 360° . Para un ángulo de 0° corresponde un color fucsia, para un ángulo de 45°

corresponde un color rojo y para un ángulo de 90° corresponde un color amarillo. En la Figura 20 se aprecia que las muestras N° 3 y 7 presentan tonalidades de color $^\circ h = 59.93^\circ$ y $^\circ h = 55.86$ respectivamente, que están entre las tonalidades rojo y amarillo. El resto de muestras presentan tonalidades entre fucsia y rojo.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- En el proceso de extracción y cuantificación de betalaínas de quinua variedad INIA 420-Negra Collana (*Chenopodium quinoa* Willd.) por el método Soxhlet, se evaluaron la influencia de los parámetros fisicoquímicos como el peso de quinua (w), tiempo de extracción (t) y concentración de etanol (c). La evaluación colorimétrica de los extractos obtenidos se realizó mediante el sistema CIELab, en las cuales se determinaron los parámetros de color L, a y b. Así mismo se verificó la saturación de color (C) y el tono de color ($^{\circ}h$).
- Los factores de mayor influencia en el proceso de extracción y cuantificación de betalaínas de quinua variedad INIA 420-Negra Collana (*Chenopodium quinoa* Willd) por el método soxhlet fueron el tiempo de extracción y concentración de etanol. En los experimentos realizados utilizando el diseño factorial 2^3 se obtuvo una concentración máxima de betalaínas igual a 2.24×10^{-3} mg/g utilizando 10 g de quinua, tiempo de extracción de 3 horas y concentración de etanol al 30%.
- La evaluación colorimétrica de los extractos obtenidos de la quinua variedad INIA 420-Negra Collana (*Chenopodium Quinoa* Willd.) utilizando un diseño factorial 2^3 , la luminosidad (L) estuvo en el rango de 23.6 a 43.9, lo que indica tener más claridad; el valor de a estuvo en el intervalo de 22.8 a 60.8 la que corresponde a una coloración verde a roja y en relación al parámetro b se destaca que se obtuvieron valores de 11.8 a 70.2 presentando una coloración azulada a amarillenta, indicando como valor óptimo el experimento N° 1 donde se obtuvo un valor óptimo de color rojo intenso cuyos parámetros fueron $L = 43.9$, $a = 60.6$ y $b = 35.3$.

5.2. RECOMENDACIONES

- Se recomienda evaluar el proceso de extracción y la cuantificación de betalaínas de quinua variedad INIA 420-Negra Collana (*Chenopodium quinoa* Willd.) por el método de agitación empleando distintos solventes.
- Se recomienda evaluar el efecto de la temperatura, la granulometría y el pH en los procesos de extracción y cuantificación de betalaínas de quinua variedad INIA 420-Negra Collana (*Chenopodium quinoa* Willd.).
- Se recomienda aplicar los extractos en una bebida funcional o algún producto que esté relacionado con la industria alimentaria para así poder darle más valor a las betalainas ya que esto representa a un colorante natural beneficioso para la salud.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Aguilar Tuesta, S. L., & Mamani Navarro, W. (2017). *Obtención de colorante de quinua (Chenopodium quinoa Wild) y su estabilización mediante encapsulamiento por atomización en maltodextrina* . Universidad Nacional de Juliaca.
- Belhadj, I., Najar, T., & Abderrabba, M. (2017). Chemical and antioxidant properties of betalains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(4), 675–689.
- Bresinsky, A., Körner, C., Kadereit, J., Neuhaus, G., & Sonnewald, U. (2012). *Tratado de botânica de Strasburger*. Artmed Editora.
- Cavalcante, T. (2021). *Uso de corantes vegetais na indústria de alimentos como alternativa aos corantes artificiais: uma revisão*. Universidade Federal do Ceará.
- Corrales, H. (2016). *tres volúmenes de agua salina en cinco variedades de Chenopodium quinoa w. bajo condiciones de riego por goteo*. Universidad San Agustín de Arequipa.
- FAO. (2011). *La quinua: cultivo milenario para contribuir a la seguridad alimentaria mundial*.
- Flores, M., Rentería, A., Sánchez, R., & Chávez, A. (2019). Estructura y estabilidad de las betalainas. *Interciencia*, 44(6), 318–325.
- Gengatharan, A., Dykes, G., & Choo, W. (2015). Betalains: Natural plant pigments with potential application in functional foods. *LWT-Food Science and Technology*, 64(2), 645–649.
- Godenzi, J. (2013). *El ayrampo, potencial frutícola en vías de extinción en la Región de Ayacucho*. [Www.juliopablogodenzivargas.blogspot.com/](http://www.juliopablogodenzivargas.blogspot.com/).
- Gómez, L., & Aguilar, E. (2016). Guía de cultivo de la quinua. *FAO. Organización de Las Naciones Unidas Para La Alimentación y La Agricultura e Universidad Nacional Agraria La Molina*.
- González, L. (2018). La importancia de un sistema de extracción Soxhlet en el Laboratorio. *Analitek*.
- Gutierrez Pulido, H. (2010). Control estadístico de calidad y seis sigma. In *Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingeniería Universidad de Guadalajara, México*.

- Hañari, A. (2018). *Extracción de colorante a partir de las hojas de la espinaca (Spinacia oleracea)*. Universidad Nacional del Altiplano.
- Herbach, K. M., Rohe, M., Stintzing, F. C., & Carle, R. (2006). Structural and chromatic stability of purple pitaya (*Hylocereus polyrhizus* [Weber] Britton & Rose) betacyanins as affected by the juice matrix and selected additives. *Food Research International*, 39(6), 667–677.
- Hernández, G., & Salazar, M. (2017). *Efecto de las betalainas y fenoles solubles totales de pitahaya (Hylocereus polyrhizus) como antioxidantes en yogur*. Escuela Agrícola Panamericana.
- INIA Estación Experimental Agraria Illpa-Puno. (2013). *Quinua INIA 420-Negra Collana*.
- Janiszewska, E. (2014). Microencapsulated beetroot juice as a potential source of betalain. *Powder Technology*, 264, 190–196.
- López, G., & Foy, E. (2018). *Nuevo colorante natural a partir de betacianinas del grano de la Quinua Cuchiwilla para alimentos saludables para niños*.
- Marañón, V., Rizo, L., & Chiu, R. (2011). Caracterización de las propiedades ópticas de Betacianinas y Betaxantinas por espectroscopía Uv-Vis y barrido en Z. *Superficies y Vacío*, 24(4), 113–120.
- MINAGRI. (2021). *Observatorio de las Siembras y Perspectivas de la producción Quinua*. 38.
- Ministerio de Agricultura. (2013). *Quinua INIA 420-Negra Collada*.
- Montgomery, D. (2004). *Diseño y análisis de experimentos* (2nd ed.). Editorial Limusa S.A.
- Mujica, A., Jacobsen, S.-E., Izquierdo, J., & Marathe, Jean P. (2001). *Cultivos Andinos Fao - Version 1*.
- National Research Council. (1989). *Lost crops of the Incas: little-known plants of the Andes with promise for worldwide cultivation*. National Academies Press.
- Nowak, V., Du, J., & Ruth, U. (2016). Assessment of the nutritional composition of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Food Chemistry*, 193, 47–54.
- Núñez, C. E. (2008). Extracciones con Soxhlet. *Cenunez*, 15, 1–5.

<http://www.cenunez.com.ar/archivos/39-ExtraccinconequipoSoxhlet.pdf>

- Pumahuillca, M., & Luna, A. (2019). *Evaluación de la extracción por el método Soxhlet y determinación de la estabilidad del colorante a partir de inflorescencias de Kiwicha (Amaranthus caudatus)*. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.
- Ramirez, E. (2015). *Elaboración de sopa deshidratada a partir de germinado y hojas de quinua (Chenopodium quinoa, Willd) y arveja (Pisum sativum)*.
- Reshmi, S., Aravindhan, K., & Suganya, P. (2012). The effect of light, temperature, pH on stability of betacyanin pigments in basella alba fruit. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 5(4), 107–110.
- Rodríguez, A. (2018). *Chenopodium quinoa Willd.¿ Por qué nos interesa conocerla?* Universidad de La Laguna.
- Sanchez Pizarro, A. L. (2019). Composición química proximal, minerales y capacidad antioxidante de hojas de cuatro variedades de quinua (Chenopodium quinoa) en diferentes etapas fenológicas. In *Universidad Nacional Agraria La Molina*. Universidad Nacional Agraria La Molina - Industrias Alimentarias.
- Schwartz, S., & von Elbe, J. (1983). Identification of betanin degradation products. *Zeitschrift Für Lebensmittel-Untersuchung Und Forschung*, 176(6), 448–453.
- Tarazona, M., Becerra, N., Piedra, J., & Beltrán, R. (2020). Obtención de un colorante a partir de corteza de maracuyá con el uso de técnicas convencionales de extracción. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 23(1).
- Tesoriere, L., Butera, D., Pintaudi, A., Allegra, M., & Livrea, M. (2004). Supplementation with cactus pear (Opuntia ficus-indica) fruit decreases oxidative stress in healthy humans: a comparative study with vitamin C. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 80(2), 391–395.

ANEXOS

ANEXO 1. Determinación de la concentración de betalaínas, betacianinas y betaxantinas por espectrofotometría UV/Vis.

Para determinación de la concentración de betalaínas (betacianinas y betaxantinas) se tomó 1 mL del extracto y se aforó con reactivo buffer McIlvaine pH 6.5 a 10 mL en un tubo de ensayo. Seguidamente se lectura la absorbancia de betalaínas a 538 nm y betaxantinas a 483 nm de longitudes de onda respectivamente en un espectrofotómetro UV/Vis; para la conversión de las unidades de absorbancia en unidades de concentración se utilizó la expresión:

$$B \text{ (mg / g)} = \frac{A(FD)(PM)V}{\epsilon LP} \quad (46)$$

Donde B es la concentración de betalaínas (betacianinas y betaxantinas) (mg/g), A es la absorbancia a 538 nm para las betacianinas y 483 nm para las betaxantinas, FD es el factor de dilución al momento de leer en el espectrofotómetro ($FD = \text{total/extracto}$), PM es el peso molecular (betacianinas = 550 g/mol y betaxantinas = 308 g/mol), V es el volumen inicial del extracto (mL), ϵ representa el coeficiente de extinción molar (betacianinas = 60000 L/mol cm y 48000 L/mol cm), L es la distancia que recorre la luz en la cubeta (1 cm) y P peso de la muestra (g).

Preparación buffer McIlvaine pH 6.5. Se preparó una solución de ácido cítrico monohidratado ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$) 0.1 M disolviendo 21.01 g en 1 L de agua destilada hasta aforo. También se preparó una solución de fosfato disódico dihidratado ($Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$) 0.2 M disolviendo 35.60 g en 1 L de agua destilada hasta aforo. Luego para la preparación del buffer MacIlvaine pH 6.5 se mezclaron 29.65 mL de la solución de $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ 0.1 M y 70.35 mL de la solución de $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ 0.2 M.

ANEXO 2. Absorbancias obtenidas en los diseños factoriales.

Tabla 15. Absorbancias obtenidas en el diseño factorial 2^3

N°	Peso (g)	Tiempo (h)	Alcohol (%)	Absorbancia ($\lambda = 538$ nm) betacianinas	Absorbancia ($\lambda = 483$ nm) betaxantinas
1	10	1	10	0.052	0.073
2	20	1	10	0.077	0.104
3	10	3	10	0.096	0.160
4	20	3	10	0.169	0.289
5	10	1	30	0.084	0.138
6	20	1	30	0.183	0.287
7	10	3	30	0.108	0.195
8	20	3	30	0.183	0.296
9	15	2	20	0.113	0.179
10	15	2	20	0.120	0.151
11	15	2	20	0.113	0.179

ANEXO 3. Diseños factoriales en términos de variables codificadas para la extracción de betalaínas.

Las variables operacionales de los diseños factoriales fueron codificadas a variables adimensionales de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$x_i = \frac{X_i - X_0}{\Delta X / 2} \quad (47)$$

Donde x_i es el valor adimensional de las variables independientes, X_i es el valor real de la variable independiente, X_0 es el punto central y ΔX representa el cambio de nivel.

Las variables del diseño factorial para la concentración de betalaínas (Tabla 7), se codificaron de la siguiente manera:

- Para el peso de quinua (w):

$$x_1 = \frac{w - 15}{5} \quad (48)$$

- Para el tiempo de extracción (t):

$$x_2 = \frac{t - 2}{1} \quad (49)$$

- Para la concentración de etanol (c):

$$x_3 = \frac{c - 20}{10} \quad (50)$$

Tabla 16. *Diseño factorial para la concentración de betalaínas en términos de sus variables codificadas.*

Nº	x_1	x_2	x_3	y
1	-1	-1	-1	9.45×10^{-4}
2	+1	-1	-1	6.87×10^{-4}
3	-1	+1	-1	1.91×10^{-3}
4	+1	+1	-1	1.70×10^{-3}
5	-1	-1	+1	1.66×10^{-3}
6	+1	-1	+1	1.76×10^{-3}
7	-1	+1	+1	2.24×10^{-3}
8	+1	+1	+1	1.79×10^{-3}
9	0	0	0	1.46×10^{-3}
10	0	0	0	1.38×10^{-3}
11	0	0	0	1.46×10^{-3}

ANEXO 4. Determinación de los coeficientes del modelo regresión de primer orden para los diseños factoriales.

Los coeficientes de la ecuación de regresión (Ecuación 5) para el ajuste de los resultados de los diseños factoriales se calcularon de acuerdo a la fórmula matricial:

$$\beta = (X'X)^{-1} X'y \quad (51)$$

La Tabla 16 fue convertida a la forma matricial para la determinación de los coeficientes del modelo de regresión para la concentración de betalaínas extraídas. Las matrices X e y son:

$$\begin{array}{cccccccc}
 x_0 & x_1 & x_2 & x_3 & x_1x_2 & x_1x_3 & x_2x_3 & x_1x_2x_3 & y \\
 \begin{bmatrix}
 +1 & -1 & -1 & -1 & +1 & +1 & +1 & -1 \\
 +1 & +1 & -1 & -1 & -1 & -1 & +1 & +1 \\
 +1 & -1 & +1 & -1 & -1 & +1 & -1 & +1 \\
 +1 & +1 & +1 & -1 & +1 & -1 & -1 & -1 \\
 +1 & -1 & -1 & +1 & +1 & -1 & -1 & +1 \\
 +1 & +1 & -1 & +1 & -1 & +1 & -1 & -1 \\
 +1 & -1 & +1 & +1 & -1 & -1 & +1 & -1 \\
 +1 & +1 & +1 & +1 & +1 & +1 & +1 & +1 \\
 +1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
 +1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
 +1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0
 \end{bmatrix} &
 \begin{bmatrix}
 9.45 \times 10^{-4} \\
 6.87 \times 10^{-4} \\
 1.91 \times 10^{-3} \\
 1.70 \times 10^{-3} \\
 1.66 \times 10^{-3} \\
 1.76 \times 10^{-3} \\
 2.24 \times 10^{-3} \\
 1.79 \times 10^{-3} \\
 1.46 \times 10^{-3} \\
 1.38 \times 10^{-3} \\
 1.46 \times 10^{-3}
 \end{bmatrix}
 \end{array}$$

- Se determinaron las matrices $X'X$ y el vector $X'y$ son:

$$\begin{array}{cc}
 X'X = \begin{bmatrix}
 11 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
 0 & 8 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
 0 & 0 & 8 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
 0 & 0 & 0 & 8 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
 0 & 0 & 0 & 0 & 8 & 0 & 0 & 0 \\
 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 8 & 0 & 0 \\
 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 8 & 0 \\
 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 8
 \end{bmatrix} &
 X'y = \begin{bmatrix}
 1.69 \times 10^{-2} \\
 -8.18 \times 10^{-4} \\
 2.59 \times 10^{-3} \\
 2.21 \times 10^{-3} \\
 -5.02 \times 10^{-4} \\
 1.18 \times 10^{-4} \\
 -1.37 \times 10^{-3} \\
 -5.98 \times 10^{-4}
 \end{bmatrix}
 \end{array}$$

- Se calculó la matriz inversa $(X'X)^{-1}$ es la siguiente:

$$(X'X)^{-1} = \begin{bmatrix}
 0.091 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
 0 & 0.125 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
 0 & 0 & 0.125 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
 0 & 0 & 0 & 0.125 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
 0 & 0 & 0 & 0 & 0.125 & 0 & 0 & 0 \\
 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0.125 & 0 & 0 \\
 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0.125 & 0 \\
 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0.125
 \end{bmatrix}$$

- Reemplazando las matrices $(X'X)^{-1}$ y $X'y$ en la formula matricial se tuvo:

$$\beta = \begin{bmatrix} 0.091 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0.125 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0.125 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0.125 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0.125 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0.125 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0.125 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0.125 \end{bmatrix} x \begin{bmatrix} 1.69 \times 10^{-2} \\ -8.18 \times 10^{-4} \\ 2.59 \times 10^{-3} \\ 2.21 \times 10^{-3} \\ -5.02 \times 10^{-4} \\ 1.18 \times 10^{-4} \\ -1.37 \times 10^{-3} \\ -5.98 \times 10^{-4} \end{bmatrix}$$

- El vector de los estimadores paramétricos estuvo representado por:

$$\beta = \begin{bmatrix} \beta_0 \\ \beta_1 \\ \beta_2 \\ \beta_3 \\ \beta_4 \\ \beta_5 \\ \beta_6 \\ \beta_7 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1.54 \times 10^{-3} \\ -1.02 \times 10^{-4} \\ 3.24 \times 10^{-4} \\ 2.76 \times 10^{-4} \\ -6.28 \times 10^{-5} \\ 1.48 \times 10^{-5} \\ -1.71 \times 10^{-4} \\ -7.48 \times 10^{-5} \end{bmatrix}$$

Tabla 17. Coeficientes del modelo de regresión de primer orden para la concentración de betalaínas

Factor	Coefficiente estimado
β_0	1.54×10^{-3}
β_1	-1.02×10^{-4}
β_2	3.24×10^{-4}
β_3	2.76×10^{-4}
β_4	-6.28×10^{-5}
β_5	1.48×10^{-5}
β_6	-1.71×10^{-4}
β_7	-7.48×10^{-5}

Reemplazando los coeficientes de la Tabla 17 en la Ecuación (5) tenemos el modelo de regresión de primer orden en términos de sus variables codificadas para la concentración de betalainas:

$$y = 1.54 \times 10^{-3} - 1.02 \times 10^{-4} x_1 + 3.24 \times 10^{-4} x_2 + 2.76 \times 10^{-4} x_3 - 6.28 \times 10^{-5} x_1 x_2 + 1.48 \times 10^{-5} x_1 x_3 - 1.71 \times 10^{-4} x_2 x_3 - 7.48 \times 10^{-5} x_1 x_2 x_3 \quad (52)$$

Decodificando la Ecuación (52) con las Ecuaciones (48), (49) y (50) tenemos:

$$CB = 1.54 \times 10^{-3} - 1.02 \times 10^{-4} \left(\frac{w-15}{5} \right) + 3.24 \times 10^{-4} \left(\frac{t-2}{1} \right) + 2.76 \times 10^{-4} \left(\frac{c-20}{10} \right) - 6.28 \times 10^{-5} \left(\frac{w-15}{5} \right) \left(\frac{t-2}{1} \right) + 1.48 \times 10^{-5} \left(\frac{w-15}{5} \right) \left(\frac{c-20}{10} \right) - 1.71 \times 10^{-4} \left(\frac{t-2}{1} \right) \left(\frac{c-20}{10} \right) - 7.48 \times 10^{-5} \left(\frac{w-15}{5} \right) \left(\frac{t-2}{1} \right) \left(\frac{c-20}{10} \right)$$

$$CB = 5.77 \times 10^{-4} - 6.11 \times 10^{-5} w + 4.05 \times 10^{-4} t + 1.25 \times 10^{-5} c + 1.74 \times 10^{-5} wt + 3.29 \times 10^{-6} wc + 5.33 \times 10^{-6} tc - 1.49 \times 10^{-6} wtc$$

ANEXO 5. Cálculos para el análisis de varianza (ANOVA)

CÁLCULOS PARA EL ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA CONCENTRACIÓN DE BETALAÍNAS (CB) EXTRAÍDAS DE LA QUINUA

▪ CÁLCULO DE LOS GRADOS DE LIBERTAD (GL)

- *Cálculo de los grados de libertad del modelo (GL_M):* Según la Ecuación (6) tenemos:

$$GL_{Modelo} = GL_{Lineal} + GL_{\substack{\text{Interacciones} \\ \text{de 2 términos}}} + GL_{\substack{\text{Interacciones} \\ \text{de 3 términos}}}$$

- o Cálculo de los grados de libertad lineal (GL_{Lineal}): Los efectos tienen 2 niveles, utilizando las Ecuaciones (7) y (8) tenemos:

$$GL_{x_1} = (a - 1) = 2 - 1 = 1$$

$$GL_{x_2} = (b - 1) = 2 - 1 = 1$$

$$GL_{x_3} = (c - 1) = 2 - 1 = 1$$

$$GL_{Lineal} = \sum GL_{x_i} = 1 + 1 + 1 = 3$$

- Cálculo de los grados de libertad de las interacciones de 2 términos ($GL_{\text{Interacciones de 2 términos}}$): Empleando las Ecuaciones (9) y (10) tenemos:

$$GL_{x_1x_2} = (a - 1)(b - 1) = (2 - 1)(2 - 1) = 1$$

$$GL_{x_1x_3} = (a - 1)(c - 1) = (2 - 1)(2 - 1) = 1$$

$$GL_{x_2x_3} = (b - 1)(c - 1) = (2 - 1)(2 - 1) = 1$$

$$GL_{\text{Interacciones de 2 términos}} = \sum GL_{x_i x_j} = 1 + 1 + 1 = 3$$

- Cálculo de los grados de libertad de las interacciones de 3 términos ($GL_{\text{Interacciones de 3 términos}}$): Empleando las Ecuaciones (11) y (12) tenemos:

$$GL_{x_1x_2x_3} = (a - 1)(b - 1)(c - 1) = (2 - 1)(2 - 1)(2 - 1) = 1$$

$$GL_{\text{Interacciones de 3 términos}} = \sum GL_{x_i x_j x_k} = 1$$

$$GL_{Modelo} = GL_{Lineal} + GL_{\text{Interacciones de 2 términos}} + GL_{\text{Interacciones de 3 términos}} = 3 + 3 + 1 = 7$$

- *Cálculo de los grados de libertad del total (GL_T):* Según la Ecuación (13) para un número total de experimentos igual a 11 ($N_T = 11$) tenemos:

$$GL_T = N_T - 1 = 11 - 1 = 10$$

- *Cálculo de los grados de libertad del error (GL_E):* Según la Ecuación (14) tenemos:

$$GL_E = GL_T - GL_{Lineal} - GL_{\text{Interacciones de 2 términos}} - GL_{\text{Interacciones de 3 términos}} = 10 - 3 - 3 - 1 = 3$$

- Cálculo de los grados de libertad del error puro (GL_{EP}) según la Ecuación (16) para un número de réplicas en el centro igual a 3 ($n_0 = 3$):

$$GL_{EP} = n_0 - 1 = 3 - 1 = 2$$

- Cálculo de los grados de libertad de la falta de ajuste (GL_{FA}) aplicando la Ecuación (15) es igual a:

$$GL_{FA} = GL_E - GL_{EP} = 3 - 2 = 1$$

▪ **CÁLCULO DE LA SUMA DE CUADRADOS (SC)**

- *Cálculo de la suma de cuadrados del modelo (SC_{Modelo}):* Según la Ecuación (17) tenemos:

$$SC_{Modelo} = SC_{Lineal} + SC_{\substack{\text{Interacciones} \\ \text{de 2 términos}}} + SC_{\substack{\text{Interacciones} \\ \text{de 3 términos}}}$$

○ Cálculo de la suma de cuadrados lineal (SC_{Lineal}): Utilizando las Ecuaciones (18) y (19) tenemos,

$$SC_{x_1} = \frac{\left(\sum_{i=1}^N x_i y_i \right)^2}{(N)(r)} = \frac{\left[(-1 \times 9.45 \times 10^{-4}) + \dots + (1 \times 1.79 \times 10^{-3}) \right]^2}{8 \times 1} = 8.36 \times 10^{-8}$$

$$SC_{x_2} = \frac{\left(\sum_{i=1}^N x_i y_i \right)^2}{(N)(r)} = \frac{\left[(-1 \times 9.45 \times 10^{-4}) + \dots + (1 \times 1.79 \times 10^{-3}) \right]^2}{8 \times 1} = 8.37 \times 10^{-7}$$

$$SC_{x_3} = \frac{\left(\sum_{i=1}^N x_i y_i \right)^2}{(N)(r)} = \frac{\left[(-1 \times 9.45 \times 10^{-4}) + \dots + (1 \times 1.79 \times 10^{-3}) \right]^2}{8 \times 1} = 6.09 \times 10^{-7}$$

$$SC_{Lineal} = \sum SC_{x_i} = 8.36 \times 10^{-8} + 8.37 \times 10^{-7} + 6.09 \times 10^{-7} = 1.53 \times 10^{-6}$$

○ Cálculo de la suma de cuadrados de las interacciones de 2 términos ($GL_{\substack{\text{Interacciones} \\ \text{de 2 términos}}}$): Empleando las Ecuaciones (20) y (21) tenemos:

$$SC_{x_1 x_2} = \frac{\left(\sum_{i=1, j=1}^N (x_i x_j) y_i \right)^2}{(N)(r)} = \frac{\left[(1 \times 9.45 \times 10^{-4}) + \dots + (1 \times 1.79 \times 10^{-3}) \right]^2}{8 \times 1} = 3.15 \times 10^{-8}$$

$$SC_{x_1 x_3} = \frac{\left(\sum_{i=1, j=1}^N (x_i x_j) y_i \right)^2}{(N)(r)} = \frac{\left[(1 \times 9.45 \times 10^{-4}) + \dots + (1 \times 1.79 \times 10^{-3}) \right]^2}{8 \times 1} = 1.74 \times 10^{-9}$$

$$SC_{x_2 x_3} = \frac{\left(\sum_{i=1, j=1}^N (x_i x_j) y_i \right)^2}{(N)(r)} = \frac{\left[(1 \times 9.45 \times 10^{-4}) + \dots + (1 \times 1.79 \times 10^{-3}) \right]^2}{8 \times 1} = 2.34 \times 10^{-7}$$

$$SC_{\substack{\text{Interacciones} \\ \text{de 2 términos}}} = \sum SC_{x_i x_j} = 3.15 \times 10^{-8} + 1.74 \times 10^{-9} + 2.34 \times 10^{-7} = 2.67 \times 10^{-7}$$

- Cálculo de la suma de cuadrados de las interacciones de 3 términos ($SC_{\text{Interacciones de 3 términos}}$): Empleando las Ecuaciones (22) y (23) tenemos:

$$SC_{x_1x_2x_3} = \frac{\left(\sum_{i=1, j=1, k=1}^N (x_i x_j x_k) y_i \right)^2}{(N)(r)} = \frac{\left[(-1 \times 9.45 \times 10^{-4}) + \dots + (1 \times 1.79 \times 10^{-3}) \right]^2}{8 \times 1} = 4.47 \times 10^{-8}$$

$$SC_{\text{Interacciones de 3 términos}} = \sum SC_{x_i x_j x_k} = 4.47 \times 10^{-8}$$

$$SC_{\text{Modelo}} = 1.53 \times 10^{-6} + 2.67 \times 10^{-7} + 4.47 \times 10^{-8} = 1.84 \times 10^{-6}$$

- *Cálculo de la suma de cuadrados del total (SC_T):* Según la Ecuación (27) para un número total de experimentos igual a 11 ($N_T = 11$) tenemos:

$$SC_T = \sum_{i=1}^N y_i^2 - \frac{\left(\sum_{i=1}^N y_i \right)^2}{N_T}$$

$$SC_T = \left[(9.45 \times 10^{-4})^2 + \dots + (1.46 \times 10^{-3})^2 \right] - \frac{\left[9.45 \times 10^{-4} + \dots + 1.46 \times 10^{-3} \right]^2}{11} = 1.90 \times 10^{-6}$$

- *Cálculo de la suma de cuadrados del error (GL_E):* Según la Ecuación (24) tenemos:

$$SC_E = SC_T - SC_{\text{Lineal}} - SC_{\text{Interacciones de 2 términos}} - SC_{\text{Interacciones de 3 términos}}$$

$$SC_E = 1.90 \times 10^{-6} - 1.53 \times 10^{-6} - 2.67 \times 10^{-7} - 4.47 \times 10^{-8} = 5.55 \times 10^{-8}$$

- Cálculo de la suma de cuadrados del error puro (SC_{EP}) según la Ecuación (26) para un número de réplicas en el centro igual a 3 ($n_0 = 3$):

$$SC_{EP} = \sum_{i=1}^{n_0} \left(Y_i^0 - \bar{Y}^0 \right)^2$$

$$SC_{EP} = (1.46 \times 10^{-3} - 1.43 \times 10^{-3})^2 + (1.38 \times 10^{-3} - 1.43 \times 10^{-3})^2 + (1.46 \times 10^{-3} - 1.43 \times 10^{-3})^2$$

$$SC_{EP} = 4.27 \times 10^{-9}$$

- Cálculo de la suma de cuadrados de la falta de ajuste (GL_{FA}) aplicando la Ecuación (25) es igual a:

$$SC_{FA} = SC_E - SC_{EP} = 5.55 \times 10^{-8} - 4.27 \times 10^{-9} = 5.12 \times 10^{-8}$$

▪ CÁLCULO DEL CUADRADO MEDIO (CM)

- *Cálculo del cuadrado medio del modelo (CM_{Modelo}):* Según la Ecuación (28) tenemos:

$$CM_{Modelo} = \frac{SC_{Modelo}}{GL_{Modelo}} = \frac{1.84 \times 10^{-6}}{7} = 2.63 \times 10^{-7}$$

- Cálculo del cuadrado medio lineal (CM_{Lineal}) y cuadrado medio de los efectos lineales ($CM_{Efectos\ lineales}$): Utilizando las Ecuaciones (29) y (30):

$$CM_{Lineal} = \frac{SC_{Lineal}}{GL_{Lineal}} = \frac{1.53 \times 10^{-6}}{3} = 5.10 \times 10^{-7}$$

$$CM_{Efectos\ lineales} = CM_{x_1} = \frac{SC_{x_1}}{GL_{x_1}} = \frac{8.36 \times 10^{-8}}{1} = 8.36 \times 10^{-8}$$

$$CM_{Efectos\ lineales} = CM_{x_2} = \frac{SC_{x_2}}{GL_{x_2}} = \frac{8.37 \times 10^{-7}}{1} = 8.37 \times 10^{-7}$$

$$CM_{Efectos\ lineales} = CM_{x_3} = \frac{SC_{x_3}}{GL_{x_3}} = \frac{6.09 \times 10^{-7}}{1} = 6.09 \times 10^{-7}$$

- Cálculo del cuadrado medio de las interacciones de 2 términos ($GL_{Interacciones\ de\ 2\ términos}$):
Empleando las Ecuaciones (31) y (32):

$$CM_{Interacciones\ de\ 2\ términos} = \frac{SC_{Interacciones\ de\ 2\ términos}}{GL_{Interacciones\ de\ 2\ términos}} = \frac{2.67 \times 10^{-7}}{3} = 8.91 \times 10^{-8}$$

$$CM_{Interacciones\ de\ 2\ variables} = \frac{SC_{x_1x_2}}{GL_{x_1x_2}} = \frac{3.15 \times 10^{-8}}{1} = 3.15 \times 10^{-8}$$

$$CM_{Interacciones\ de\ 2\ variables} = \frac{SC_{x_1x_3}}{GL_{x_1x_3}} = \frac{1.74 \times 10^{-9}}{1} = 1.74 \times 10^{-9}$$

$$CM_{Interacciones\ de\ 2\ variables} = \frac{SC_{x_2x_3}}{GL_{x_2x_3}} = \frac{2.34 \times 10^{-7}}{1} = 2.34 \times 10^{-7}$$

- Cálculo del cuadrado medio de las interacciones de 3 términos ($GL_{Interacciones\ de\ 3\ términos}$):
Empleando las Ecuaciones (33) y (34):

$$CM_{Interacciones\ de\ 3\ términos} = \frac{SC_{Interacciones\ de\ 3\ términos}}{GL_{Interacciones\ de\ 3\ términos}} = \frac{4.47 \times 10^{-8}}{1} = 4.47 \times 10^{-8}$$

$$CM_{Interacciones\ de\ 3\ variables} = \frac{SC_{x_1x_2x_3}}{GL_{x_1x_2x_3}} = \frac{4.47 \times 10^{-8}}{1} = 4.47 \times 10^{-8}$$

- Cálculo del cuadrado medio del error (SC_E), cuadrado medio de la falta de ajuste (CM_{FA}) y cuadrado medio del error puro (CM_{EP}): Según las Ecuaciones (35), (36) y (37) tenemos:

$$CM_E = \frac{SC_E}{GL_E} = \frac{5.55 \times 10^{-8}}{3} = 1.85 \times 10^{-8}$$

$$CM_{FA} = \frac{SC_{FA}}{GL_{FA}} = \frac{5.12 \times 10^{-8}}{1} = 5.12 \times 10^{-8}$$

$$CM_{EP} = \frac{SC_{EP}}{GL_{EP}} = \frac{4.27 \times 10^{-9}}{2} = 2.13 \times 10^{-9}$$

▪ CÁLCULO DEL ESTADÍSTICO FISHER (F_0)

- Cálculo del estadístico Fisher para el modelo: Según la Ecuación (32) tenemos:

$$F_0(\text{Modelo}) = \frac{CM_{\text{Modelo}}}{CM_E} = \frac{2.63 \times 10^{-7}}{1.85 \times 10^{-8}} = 14.24$$

- o Cálculo del estadístico Fisher para el lineal, efectos lineales, interacción de 2 términos e interacción de 3 variables: Utilizando las Ecuaciones (38):

$$F_0(\text{Lineal}) = \frac{CM_{\text{Lineal}}}{CM_E} = \frac{5.10 \times 10^{-7}}{1.85 \times 10^{-8}} = 27.60$$

$$F_0(x_1) = \frac{CM_{x_1}}{CM_E} = \frac{8.36 \times 10^{-8}}{1.85 \times 10^{-8}} = 4.53$$

$$F_0(x_2) = \frac{CM_{x_2}}{CM_E} = \frac{8.37 \times 10^{-7}}{1.85 \times 10^{-8}} = 45.29$$

$$F_0(x_3) = \frac{CM_{x_3}}{CM_E} = \frac{6.09 \times 10^{-7}}{1.85 \times 10^{-8}} = 32.97$$

$$F_0(\text{Interacción de 2 términos}) = \frac{CM_{\text{Interacciones de 2 términos}}}{CM_E} = \frac{8.91 \times 10^{-8}}{1.85 \times 10^{-8}} = 4.82$$

$$F_0(x_1 x_2) = \frac{CM_{x_1 x_2}}{CM_E} = \frac{3.15 \times 10^{-8}}{1.85 \times 10^{-8}} = 1.70$$

$$F_0(x_1 x_3) = \frac{CM_{x_1 x_3}}{CM_E} = \frac{1.74 \times 10^{-9}}{1.85 \times 10^{-8}} = 0.09$$

$$F_0(x_2x_3) = \frac{CM_{x_2x_3}}{CM_E} = \frac{2.34 \times 10^{-7}}{1.85 \times 10^{-8}} = 12.66$$

$$F_0(\text{Interacción de 3 términos}) = \frac{CM_{\text{Interacciones de 3 términos}}}{CM_E} = \frac{4.47 \times 10^{-8}}{1.85 \times 10^{-8}} = 2.42$$

$$F_0(x_1x_2x_3) = \frac{CM_{x_1x_2x_3}}{CM_E} = \frac{4.47 \times 10^{-8}}{1.85 \times 10^{-8}} = 2.42$$

- *Cálculo del estadístico Fisher para la falta de ajuste:* Según la Ecuación (38) tenemos:

$$F_0(\text{Falta de ajuste}) = \frac{CM_{FA}}{CM_E} = \frac{5.12 \times 10^{-8}}{1.85 \times 10^{-8}} = 23.99$$

ANEXO 6. Puntos porcentuales de la distribución $F; F_{0.05, \nu_1, \nu_2}$

$\nu_2 \backslash \nu_1$	Grados de libertad del numerador (ν_1)												∞						
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	24	30	40	60	120	∞
2	161.4	199.5	215.7	224.6	230.2	234.0	236.8	238.9	240.5	241.9	243.9	245.9	248.0	249.1	250.1	251.1	252.2	253.3	254.3
3	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38	19.40	19.41	19.43	19.45	19.45	19.46	19.47	19.48	19.49	19.50
4	10.13	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81	8.79	8.74	8.70	8.66	8.64	8.62	8.59	8.57	8.55	8.53
5	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6.00	5.96	5.91	5.86	5.80	5.77	5.75	5.72	5.69	5.66	5.63
6	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.77	4.74	4.68	4.62	4.56	4.53	4.50	4.46	4.43	4.40	4.36
7	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10	4.06	4.00	3.94	3.87	3.84	3.81	3.77	3.74	3.70	3.67
8	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68	3.64	3.57	3.51	3.44	3.41	3.38	3.34	3.30	3.27	3.23
9	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39	3.35	3.28	3.22	3.15	3.12	3.08	3.04	3.01	2.97	2.93
10	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18	3.14	3.07	3.01	2.94	2.90	2.86	2.83	2.79	2.75	2.71
11	4.96	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02	2.98	2.91	2.85	2.77	2.74	2.70	2.66	2.62	2.58	2.54
12	4.84	3.98	3.59	3.36	3.20	3.09	3.01	2.95	2.90	2.85	2.79	2.72	2.65	2.61	2.57	2.53	2.49	2.45	2.40
13	4.75	3.89	3.49	3.26	3.11	3.00	2.91	2.85	2.80	2.75	2.69	2.62	2.54	2.51	2.47	2.43	2.38	2.34	2.30
14	4.67	3.81	3.41	3.18	3.03	2.92	2.83	2.77	2.71	2.67	2.60	2.53	2.46	2.42	2.38	2.34	2.30	2.25	2.21
15	4.60	3.74	3.34	3.11	2.96	2.85	2.76	2.70	2.65	2.60	2.53	2.46	2.39	2.35	2.31	2.27	2.22	2.18	2.13
16	4.54	3.68	3.29	3.06	2.90	2.79	2.71	2.64	2.59	2.54	2.48	2.40	2.33	2.29	2.25	2.20	2.16	2.11	2.07
17	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85	2.74	2.66	2.59	2.54	2.49	2.42	2.35	2.28	2.24	2.19	2.15	2.11	2.06	2.01
18	4.45	3.59	3.20	2.96	2.81	2.70	2.61	2.55	2.49	2.45	2.38	2.31	2.23	2.19	2.15	2.10	2.06	2.01	1.96
19	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77	2.66	2.58	2.51	2.46	2.41	2.34	2.27	2.19	2.15	2.11	2.06	2.02	1.97	1.92
20	4.38	3.52	3.13	2.90	2.74	2.63	2.54	2.48	2.42	2.38	2.31	2.23	2.16	2.11	2.07	2.03	1.98	1.93	1.88
21	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.51	2.45	2.39	2.35	2.28	2.20	2.12	2.08	2.04	1.99	1.95	1.90	1.84
22	4.32	3.47	3.07	2.84	2.68	2.57	2.49	2.42	2.37	2.32	2.25	2.18	2.10	2.05	2.01	1.96	1.92	1.87	1.81
23	4.30	3.44	3.05	2.82	2.66	2.55	2.46	2.40	2.34	2.30	2.23	2.15	2.07	2.03	1.98	1.94	1.89	1.84	1.78
24	4.28	3.42	3.03	2.80	2.64	2.53	2.44	2.37	2.32	2.27	2.20	2.13	2.05	2.01	1.96	1.91	1.86	1.81	1.76
25	4.26	3.40	3.01	2.78	2.62	2.51	2.42	2.36	2.30	2.25	2.18	2.11	2.03	1.98	1.94	1.89	1.84	1.79	1.73
26	4.24	3.39	2.99	2.76	2.60	2.49	2.40	2.34	2.28	2.24	2.16	2.09	2.01	1.96	1.92	1.87	1.82	1.77	1.71
27	4.23	3.37	2.98	2.74	2.59	2.47	2.39	2.32	2.27	2.22	2.15	2.07	1.99	1.95	1.90	1.85	1.80	1.75	1.69
28	4.21	3.35	2.96	2.73	2.57	2.46	2.37	2.31	2.25	2.20	2.13	2.06	1.97	1.93	1.88	1.84	1.79	1.73	1.67
29	4.20	3.34	2.95	2.71	2.56	2.45	2.36	2.29	2.24	2.19	2.12	2.04	1.96	1.91	1.87	1.82	1.77	1.71	1.65
30	4.18	3.33	2.93	2.70	2.55	2.43	2.35	2.28	2.22	2.18	2.10	2.03	1.94	1.90	1.85	1.81	1.75	1.70	1.64
40	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53	2.42	2.33	2.27	2.21	2.16	2.09	2.01	1.93	1.89	1.84	1.79	1.74	1.68	1.62
60	4.08	3.23	2.84	2.61	2.45	2.34	2.25	2.18	2.12	2.08	2.00	1.92	1.84	1.79	1.74	1.69	1.64	1.58	1.51
120	3.92	3.07	2.68	2.45	2.29	2.17	2.09	2.02	1.96	1.91	1.83	1.75	1.66	1.61	1.55	1.50	1.43	1.35	1.25

FUENTE: Montgomery (2004).

ANEXO 7. Panel fotográfico de equipos utilizados.



Equipo Soxhlet



Balanza analítica





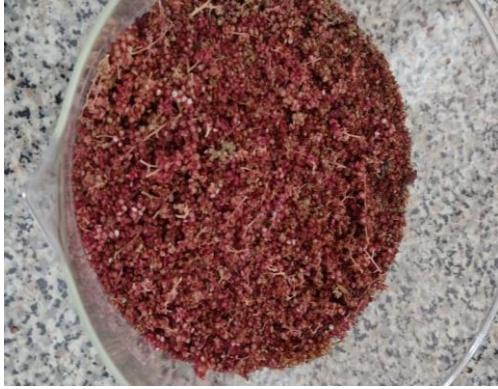



Estufa eléctrica



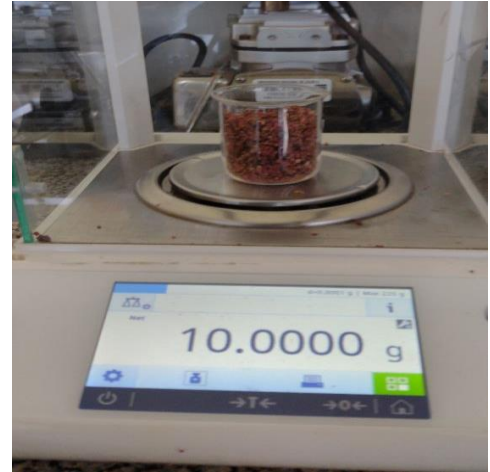
Espectrofotómetro UV- Vis

ANEXO 8: Panel fotográfico del proceso de ejecución.

	
<p>Extracción de Quinoa negra Collana INIA 420</p>	<p>Panoja de Quinoa negra Collana INIA 420</p>
	
<p>Quinoa negra Collana INIA 420 fresca</p>	<p>Quinoa negra Collana INIA 420 después del secado</p>
	
<p>Separación de impurezas de la quinoa</p>	<p>Quinoa pesada</p>



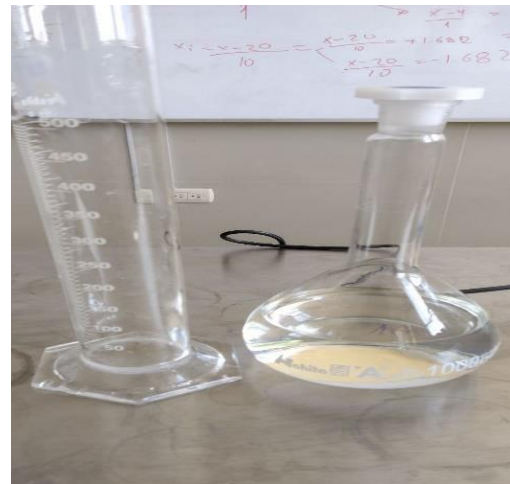
Pesado de la quinua 10,15,20 gr cada muestra



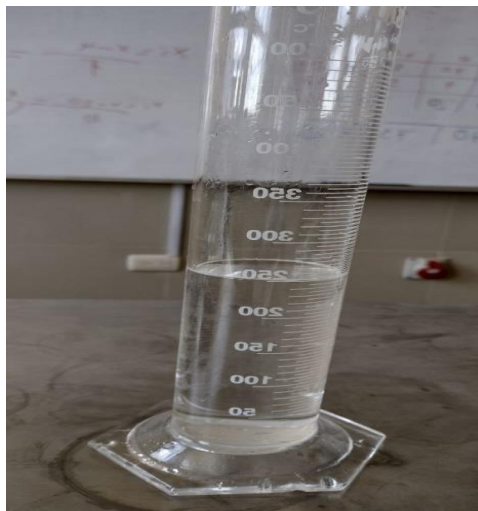
Pesado de la quinua 10, 15, 20 gr cada muestra



Pesado de la quinua antes del proceso



Concentracion de etanol (10%, 20%, 30%)



Medida del metanol (250 mL)



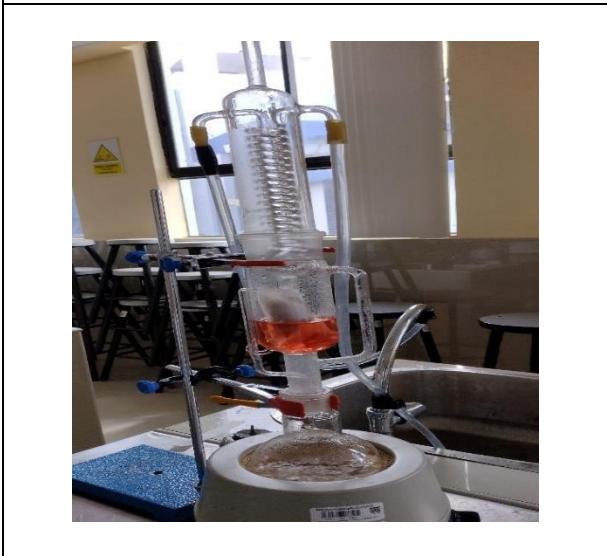
Introduccion del cartucho al equipo



Introducción del cartucho al equipo



Inicio de cocción del etanol



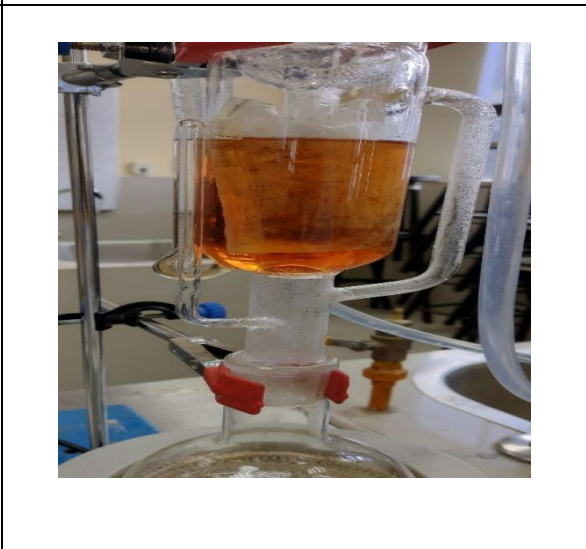
Proceso inicial de extracción de betalaínas



Proceso de extracción de betalaínas



Concentración de betalainas +solvente 10%



Concentración de betalainas+ solvente 20%



Concentración de betalainas + solvente



Expulsión de flujo de agua





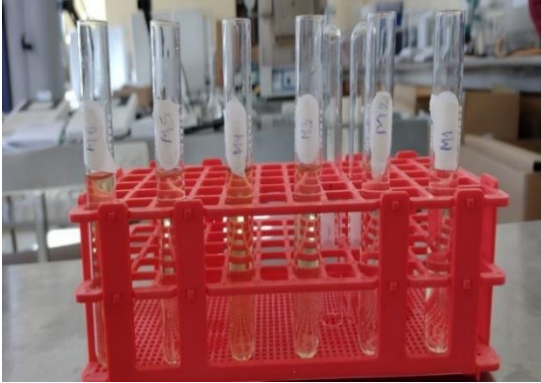
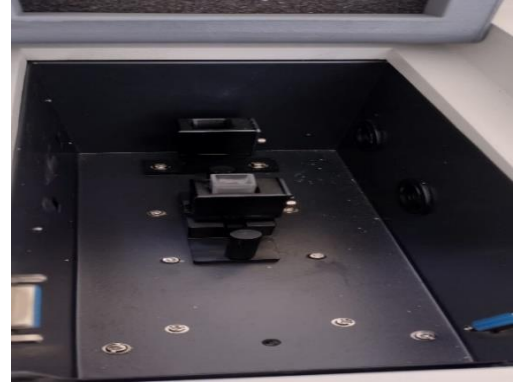


Extracción final de betalaínas



Muestras finales

ANEXO 9: Panel fotográfico del proceso de contabilización de betalaínas (CB)

	
<p>Soluciones para los análisis</p>	<p>Aplicación de la solución a las muestras</p>
	
<p>Aplicación de la solución a las muestras</p>	<p>Calibración del espectrofotómetro UV/VIS</p>
	
<p>Muestras listas para la cuantificación</p>	<p>Calibración de celdas del espectrofotómetro</p>



Aplicación de celdas al equipo espectrofotómetro



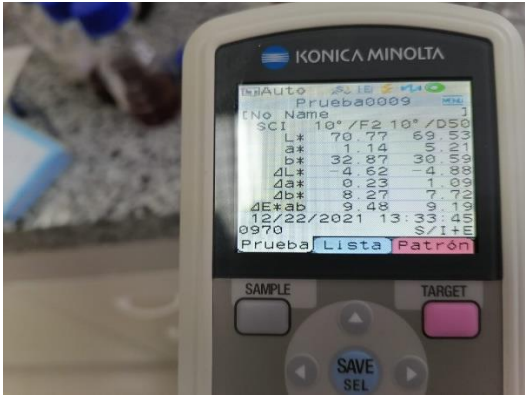


Muestras terminadas después de la contabilización



Obtención de muestras finales

ANEXO 10. Panel fotográfico de medición de color en el espacio CIELAB (L^*a^*b) con el equipo colorímetro Konica Minolta

	
<p>Calibración de Colorímetro</p>	<p>Identificación de espacios L^*a^*b</p>
	
<p>Inicio de medición de color</p>	



UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA

“Universidad pública de calidad”

UWA