

**EVALUACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE GENIPINA PARA LA PRODUCCIÓN DE
COLORANTE AZUL A PARTIR DEL FRUTO DE LA *GENIPA AMERICANA L.***

**CARLOS DANIEL ANDRADE ABELLA
DANIELA PRIETO GÓMEZ**

Proyecto Integral de grado para optar el título de:
INGENIERO QUÍMICO

Director:

Luis Alberto Figueroa Casallas
Ingeniero Químico

FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA
FACULTAD DE INGENIERÍAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BOGOTA D.C
2021

NOTA DE ACEPTACIÓN

Nota de aceptación

Firma del Director

Firma del presidente de jurado

Firma del jurado

Bogotá D.C., julio del 2021

DIRECTIVOS DE LA UNIVERSIDAD

Presidente de la Universidad y Rector del Claustro

Dr. Mario Posada García-Peña

Consejero Institucional

Dr. Luis Jaime Posada García-Peña

Vicerrectoría Académica y de Investigaciones

Dra. Alexandra Mejía Guzmán

Vicerrector Administrativo y Financiero

Dr. Ricardo Alfonso Peñaranda Castro

Secretario General

Dr. José Luis Macías Rodríguez

Decano de la Facultad de Ingeniería

Dr. Julio César Fuentes Arismendi

Director de Programa Ingeniería Química

Ing. Nubia Liliana Becerra Ospina

Las directivas de la Universidad de América, los jurados calificadores y el cuerpo docente no son responsables por los criterios e ideas expuestas en el presente documento. Estos corresponden únicamente a los autores.

DEDICATORIA

Para Dios, por su llegada a mi vida y por estar conmigo, por su plan, por su promesa y por mostrarme triunfos que nunca creí alcanzar. Por ser el universo y por enseñarme la química del amor.

A Él porque conoce mi corazón y me ha enamorado día a día. No me alcanza la vida entera por agradecer que seas mi luz, mi confidente y consejero.

Dedico con todo mi corazón y cariño este trabajo a mi madre Nancy Abella y a mi padre Alfonso Andrade, por su sacrificio y guía en convertirme en lo que soy hoy en día, mi motivación y mi más grande orgullo.

A mi hermana menor, mi más grande y fiel compañera que me ha apoyado en todo mi proceso. Por tu forma de amor y por tu hermosa personalidad.

Lleno de regocijo, amor y afecto tengo el honor de mencionar a mis seres queridos y a mi familia que han sido pilares para mi crecimiento personal y profesional.

A mis amigos y amigas que me han guiado en este camino y apoyado para poder culminar mis metas y gracias a los que han puesto su confianza en mí.

De manera especial, a todos los que ya no están y fueron como estrellas fugaces.

A los que permanecen como el infinito universo.

-Daniel

A Dios, por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi vida profesional porque sin él nada de esto hubiera sido posible.

A mis padres, Ana Elvia Gómez y Pedro Arturo Prieto, quienes a lo largo de toda mi vida me han apoyado y motivado en mi formación académica, su amor y esfuerzo han hecho de ellos un gran ejemplo a seguir por mí y por mi hermano y sin ellos jamás hubiera podido conseguir lo que hasta ahora he conseguido, gracias por todo su amor.

A mi hermano Camilo Prieto Gómez por ser mi compañía, mi mejor amigo, mi apoyo y mi fuerza para seguir adelante.

A mis abuelos porque me han transmitido los valores y el conocimiento necesario para poder superar cualquier obstáculo que se me presente en la vida.

A toda mi familia porque con sus oraciones, consejos y palabras de aliento cada día hacen de mí una mejor persona y de una u otra forma me acompañan en todos mis sueños y metas.

A todas mis amigas de la universidad, quienes han compartido conmigo todos estos años en nuestra vida universitaria.

-Daniela

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por ser mi mejor amigo y consejero, el promotor de mis sueños, mi Roca y Fortaleza en todo momento. Eres quien guía el destino de mi vida.

Agradezco de todo corazón a mi madre y mi padre por ser mi mano derecha, por sus enseñanzas y siempre buscar lo mejor para mí. Por su sacrificio y esfuerzo lleno de amor hasta el día de hoy.

A mi segunda madre, Jackeline Abella por ser una mujer y ser humano digno de admirar por su gran corazón y humildad. La ayuda que me has brindado ha sido de vital importancia en mi formación y mi vida, me apoyaste en todo lo que podías y mucho más.

A más que mi hermana, Angie, por ser mi felicidad, por estar presente no solo en esta etapa tan importante en mi vida, sino en todos los momentos cuando necesitaba tu consejo.

A una persona maravillosa: Fernanda Arcila; por ser mi consejera y constante motivación. Gracias por tu confianza a lo largo de este camino. Me llena de orgullo haberte conocido y contar contigo en momentos difíciles.

A quien aprecio con todo mi corazón, Juliana Álvarez, por ser un arcoíris en mi vida, tu amor para mi es invaluable, gracias por siempre estar y ser la persona más incondicional en este camino.

A Lana del Rey ♥.

A mis docentes que contribuyeron en el desarrollo del trabajo de investigación y sus aportes realizados. En especial a nuestro asesor por su tiempo, dedicación y paciencia en la elaboración de este proyecto para obtener este logro y triunfo.

A la Universidad por formarme como un profesional para la Patria.

-Daniel

Quisiera expresar mi agradecimiento a Dios por protegerme durante todo mi camino y darme fuerzas para superar obstáculos y dificultades a lo largo de toda mi carrera y vida.

A mis padres, que son la demostración de unos padres ejemplares que me han enseñado a no rendirme ante nada y siempre persistir con sus sabios consejos.

A todos mis familiares por acompañarme durante todo este arduo camino y compartir conmigo circunstancias buenas y malas.

A mis amigas por haber logrado este gran objetivo con mucha perseverancia y por demostrarme que podemos ser grandes amigas y compañeras de trabajo a la vez.

Gracias a todas las personas que ayudaron directa e indirectamente en la elaboración de este proyecto de grado.

-Daniela

TABLA DE CONTENIDO

	pág.
RESUMEN	16
INTRODUCCIÓN	17
OBJETIVOS	19
1. MARCO TEÒRICO	20
1.1. <i>Genipa Americana L</i>	20
1.1.1. <i>Taxonomía</i>	20
1.1.2. <i>Descripción botánica</i>	21
1.1.3. <i>Distribución de la Jagua</i>	25
1.1.4. <i>Usos</i>	26
1.2. Métodos de análisis en alimentos	27
1.2.1. <i>Métodos físicos</i>	28
1.2.2. <i>Métodos químicos</i>	30
1.3. Genipina.	33
1.3.1. <i>Estructura química</i>	33
1.3.2. <i>Propiedades</i>	34
1.3.3. <i>Usos</i>	35
1.3.4. <i>Aminoácidos</i>	36
1.4. Método de extracción	39
1.4.1. <i>Descripción del equipo de extracción</i>	39
1.4.2. <i>Ventajas y desventajas</i>	41
1.4.3. <i>Etanol</i>	41
1.5. Colorante	42
1.5.1. <i>Tipos de colorantes</i>	43
1.5.2. <i>Colorantes azules</i>	44
1.5.3. <i>Reglamentación</i>	46
2. ANÁLISIS DEL FRUTO DE LA GENIPA AMERICANA L.	49
2.1. Análisis sensorial cualitativo	49
2.1.1. <i>Color</i>	50
2.1.2. <i>Olor</i>	51
2.1.3. <i>Sabor</i>	53
2.1.4. <i>Textura</i>	54
2.2. Análisis fisicoquímico	55
2.2.1. <i>pH</i>	56
2.2.2. <i>Densidad</i>	57
2.2.3. <i>Acidez tituleable</i>	59
2.2.4. <i>Sólidos solubles</i>	60
2.2.5. <i>Índice de refracción</i>	61
2.3. Análisis bromatológico proximal	63
2.3.1. <i>Humedad</i>	64
2.3.2. <i>Cenizas</i>	64
2.3.3. <i>Proteínas</i>	65
2.3.4. <i>Grasa bruta</i>	67
2.3.5. <i>Fibra cruda</i>	68

2.3.6.	<i>Carbohidratos</i>	69
2.3.7.	<i>Aporte calórico</i>	69
3.	PROCESO DE EXTRACCIÓN	72
3.1.	Impacto social, económico y ambiental del uso de la jagua como materia prima	73
3.2.	Acondicionamiento de la materia prima	74
3.3.	Elección del disolvente	76
3.4.	Condiciones de operación	77
3.5.	Descripción del proceso de extracción	80
3.6.	Caracterización fisicoquímica de los extractos alcohólicos	81
3.6.1.	<i>pH</i>	82
3.6.2.	<i>Sólidos solubles</i>	83
3.6.3.	<i>Densidad</i>	84
3.7.	Metodología de purificación e identificación de genipina	84
3.7.1.	<i>Espectrofotometría UV</i>	84
3.7.2.	<i>Cromatografía HPLC</i>	85
4.	RENDIMIENTO DE EXTRACCIÓN TOTAL CON PRESENCIA DE GENIPINA	87
4.1.	Concentración de genipina por secado en mufla	87
4.2.	Concentración de genipina por filtración al vacío	90
5.	PRODUCCIÓN DE COLORANTE AZUL	95
5.1.	Mecanismo de reacción de la genipina	95
5.2.	Preparación de las muestras	100
5.3.	Diseño de experimentos	102
5.3.1.	<i>Color inicial para las soluciones de Jagua</i>	106
5.3.2.	<i>Intensidad del color para las soluciones de Jagua</i>	115
5.3.3.	<i>Tono del color para las soluciones de Jagua</i>	125
5.3.4.	<i>Estabilidad del color para las soluciones de Jagua</i>	133
6.	CONCLUSIONES	136
	BIBLIOGRAFÍA	138
	GLOSARIO	151
	ANEXOS	154

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Árbol de Jagua	22
Figura 2. Hojas de la Jagua	23
Figura 3. Flor de la Jagua	24
Figura 4. Fruto de la Jagua	24
Figura 5. Partes del fruto de la Jagua	25
Figura 6. Distribución geográfica de la Jagua	26
Figura 7. Espectro de luz visible	28
Figura 8. Escala de ph	30
Figura 9. Estructura química de la genipina	34
Figura 10. Estructura química de un aminoácido	36
Figura 11. Partes del extractor Soxhlet	40
Figura 12. Estructuras químicas que representan cada una de las siete clases principales de compuestos orgánicos naturales pigmentados de azul	45
Figura 13. Resultados de olor para las diferentes partes de la fruta	52
Figura 14. Prueba y análisis de sabor para la pulpa de la fruta	53
Figura 15. Prueba y análisis de textura de la fruta entera	54
Figura 16. Diagrama de bloques del proceso de extracción, identificación y purificación de genipina	72
Figura 17. Equipo de extracción Soxhlet para obtención de extracto rico en genipina	79
Figura 18. Sifonado del etanol 99%	80
Figura 19. Enfriamiento de los crisoles con muestra de genipina	88
Figura 20. Separación de la fase acuosa y genipina libre	90
Figura 21. Filtración al vacío de separación del solvente-analito	91
Figura 22. Pigmento rico en genipina para extractos de 30 g	92
Figura 23. Pigmento rico en genipina para extractos de 60 g	92
Figura 24. Pigmento rico en genipina para extractos de 90 g	92
Figura 25. Reacción entre una amina primaria y genipina	96
Figura 26. 1er tipo de reacción de entrecruzamiento entre una amina primaria y genipina	97
Figura 27. 2do tipo de reacción de entrecruzamiento entre una amina primaria y genipina	97
Figura 28. Tipos de reacción entre genipina y glicina	98
Figura 29. Formación del polímero azul por reacción entre genipina y glicina	99
Figura 30. Gráfica de efectos principales del color azul inicial de las soluciones de Jagua con glicina	109
Figura 31. Gráfica de interacción del color azul inicial de las soluciones de Jagua con glicina	110

Figura 32. Gráfica de efectos principales del color azul inicial de las soluciones de Jagua con lisina	113
Figura 33. Gráfica de interacción del color azul inicial de las soluciones de Jagua con lisina	114
Figura 34. Intensidad del color azul	115
Figura 35. Gráfica de efectos principales para intensidad de las soluciones de Jagua con glicina	119
Figura 36. Gráfica de interacción de intensidad de las soluciones de Jagua con glicina	120
Figura 37. Gráfica de efectos principales para intensidad de las soluciones de Jagua con lisina	123
Figura 38. Gráfica de interacción de intensidad de las soluciones de Jagua con lisina	124
Figura 39. Gráfica de efectos principales para tono de las soluciones de Jagua con glicina	128
Figura 40. Gráfica de interacción de tono de las soluciones de Jagua con glicina	129
Figura 41. Gráfica de efectos principales para tono de las soluciones de Jagua con lisina	132
Figura 42. Gráfica de interacción de tono de las soluciones de Jagua con lisina	133

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Taxonomía de la Jagua	21
Tabla 2. Ventajas y desventajas de los métodos usados para determinación de proteínas	32
Tabla 3. Propiedades de la glicina	37
Tabla 4. Propiedades de la lisina	38
Tabla 5. Propiedades del etanol	42
Tabla 6. Colorantes artificiales azules certificados	46
Tabla 7. Prueba y análisis de color para las diferentes partes de la fruta	50
Tabla 8. Valores de pH de extractos de pulpa	56
Tabla 9. Densidad del fruto entero de la Jagua y su jugo	58
Tabla 10. Sólidos solubles totales iniciales y modificados por cambio de temperatura	61
Tabla 11. Corrección de temperatura (Comité internacional de control de análisis de azúcar)	62
Tabla 12. Corrección de °Brix según la temperatura ambiente	62
Tabla 13. Resultados de cenizas para muestras de endocarpio y mesocarpio	65
Tabla 14. Resumen del estudio sensorial, fisicoquímico y bromatológico de la Jagua	71
Tabla 15. Resultados obtenidos para el análisis de humedad y dimensiones promedio de la Jagua	75
Tabla 16. Peso de muestras para las tres extracciones por duplicado	78
Tabla 17. Resultados del análisis de los extractos resultantes del proceso de extracción	82
Tabla 18. Rendimiento del extracto total obtenido con presencia de genipina por secado	89
Tabla 19. Rendimiento del extracto del pigmento y total obtenido con presencia de genipina por filtración al vacío	93
Tabla 20. Determinación de las concentraciones molares para las soluciones de Jagua con glicina y lisina	102
Tabla 21. Modelo factorial de 3 factores con replicación	105
Tabla 22. Gama de colores que se absorben y reflejan en el espectro UV-Visible	106
Tabla 23. Color azul inicial para las soluciones de Jagua con glicina	107
Tabla 24. Anova para color azul inicial de las soluciones de Jagua con glicina	108
Tabla 25. Color azul inicial para las soluciones de Jagua con lisina	111
Tabla 26. Anova para color azul inicial de las soluciones de Jagua con lisina	112
Tabla 27. Intensidad del color para las soluciones de Jagua con glicina	116
Tabla 28. Anova para intensidad de las soluciones de Jagua con glicina	118
Tabla 29. Intensidad del color para las soluciones de Jagua con lisina	121
Tabla 30. Anova para intensidad de las soluciones de Jagua con lisina	122

Tabla 31. Tono del color para las soluciones de Jagua con glicina	126
Tabla 32. Anova para tono de las soluciones de Jagua con glicina	127
Tabla 33. Tono del color para las soluciones de Jagua con lisina	130
Tabla 34. Anova para tono de las soluciones de Jagua con lisina	131

LISTA DE SIGLAS Y ABREVIATURAS

°C	Grados Celcius.
K	Grados Kelvin.
%	Porcentaje.
µm	Micrómetro (s).
nm	Nanómetro (s).
mm	Milímetro (s).
cm	Centímetro (s).
M	Metro (s).
G	Gramo (s).
µg	Microgramo (s).
Kg	Kilogramo (s).
cm ³	Metro (s) cúbico (s).
mL	Mililitro (s).
L	Litro (s).
kcal	Kilocaloría (s).
rpm	Revoluciones por minuto.
M	Molaridad.
N	Normalidad.
p/p	Peso/peso.
p/v	Peso/volumen.
v/v	Volumen/volumen.
S/F	Relación Solvente:Alimentación
pH	Potencial de hidrógeno.
H	Hora (s).
m or min	Minuto (s).
S	Segundo (s).
PM	Peso molecular.
CAS	Chemical Abstracts Service.
GRAS	Generally recognized as safe.
No or N°	Número.
UV	Ultravioleta.
HPLC	High Performance Liquid Chromatography.
PLE	Pressurized Liquid Extraction
HHP	High Hydrostatic Pressure.
UAE	Ultrasonically assisted extraction.
PLE	Pressurized Liquid Extraction.
EAE	Enzyme-assisted extraction.
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry.
A.O.A.C.	Association of Official Agricultural Chemists.
FDA	Food and Drug Administration.
CI	Colour Index™ Generic Name (CIGN).
PubChem	Base de datos de moléculas mantenido por el National Center for Biotechnology Information.
D.C.	Distrito capital.
US	Estados Unidos.

EU	Unión Europea.
FD&C	Food and Drugs and Cosmetics.
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations.
OMS	Organización Mundial de la Salud.
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives.
CODEX	Comisión del Codex Alimentario.
GSFA	Codex General Standard for Food Additives.
NTC	Norma Técnica Colombiana.
NTP	Norma Técnica Peruana.
ISO	International Organization for Standardization.
S.A	Sociedad Anónima.
D.C.	Distrito Capital.
Ed.	Edición.
KCl	Cloruro de sodio.
HCl	Ácido clorhídrico
NaOH	Hidróxido de Sodio.
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico.
NaClO	Hipoclorito de sodio.
C ₆ H ₈ O ₇	Ácido cítrico.
CHO	Carbohidrato (s).
VE	Valor energético.
LoD	Límite de detección.
LoQ	Límite de cuantificación.
P	Densidad.
Δ	Delta/Cambio.
\bar{X}	Promedio.
GL	Grado (s) de libertad.
SC	Suma de cuadrados.
MC	Cuadrados medios.

RESUMEN

El presente trabajo tiene como propósito la elaboración de un colorante azul aprovechando la jagua destinada a la industria de alimentos como una alternativa a los colorantes artificiales que, hoy en día presentan problemas de seguridad.

En el desarrollo de este proyecto se lleva a cabo un análisis sensorial, fisicoquímico y proximal del fruto del árbol *Genipa Americana L.*, este último será estudiado para ser empleado en una extracción sólido-líquido por medio de una técnica convencional Soxhlet, manejando etanol de alta pureza para diferentes cantidades de materia prima.

En relación a lo anterior, se determinaron algunas características fisicoquímicas en los extractos obtenidos estableciendo las condiciones más favorables con el fin de concentrar e identificar un metabolito secundario conocido como genipina. En referencia a la prepurificación del analito, se efectuaron dos métodos distintos con el propósito de evaluar el rendimiento de extracción para la concentración de la aglicona.

Por último, se desarrolló un estudio por medio de un diseño de experimentos para determinar el aminoácido apropiado para la preparación de un colorante azul a partir de diferentes condiciones de concentración aminoácido: jugo, pH y tiempo empleando extracto de jugo de jagua en condiciones favorables de temperatura, luz y oxígeno evitando la degradación del compuesto de interés. Las muestras se analizaron durante 7 días para precisar el color inicial, tono, intensidad y estabilidad de cada solución.

PALABRAS CLAVE: Extracción, genipina, colorante, fruto, *Genipa americana L.*, aminoácido.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, varios proyectos apuestan por el reemplazo de los colorantes sintéticos por aquellos derivados naturalmente que, aporten beneficios a largo y corto plazo para el consumidor; a causa de que los tintes artificiales han sido ampliamente debatidos por la población y la comunidad científica por ser precursores de enfermedades y ser contaminantes ambientales [1][2].

Esta investigación tiene como propósito presentar una metodología alternativa para la sustitución de colorantes sintéticos azules que son considerados tabúes debido a su escasez en la naturaleza [3]. La jagua es un fruto proveniente de la *Genipa americana L.* que posee una sustancia conocida como genipina. Este compuesto vegetal reacciona covalente y espontáneamente con cualquier grupo amina promoviendo la formación de color siendo una opción prometedora para diversas industrias [4].

El interés de este estudio radica en la baja demanda de colorantes naturales y a limitaciones reglamentarias para su uso, por lo que, nuevas fuentes de productos a futuro representan un gran potencial de aprovechamiento en las industrias en fuentes poco exploradas [5].

Para abordar esta problemática, desde un punto de interés académico, se ha propuesto realizar ensayos fisicoquímicos y sensoriales realizados a la jagua la cual será empleada como materia prima en la extracción del iridoide con el propósito de determinar su estado de madurez.

Aunque la mayoría de procedimientos sofisticados son eficientes y emplean tecnologías verdes, están sujetos a altos costos, estrictas reglamentaciones legales de seguridad alimentaria y poseen dificultad para homologar las propiedades de los colores existentes. Por ende, se propone una separación a escala laboratorio del compuesto de interés aplicando una técnica convencional con Soxhlet, en el que la genipina será el reactivo principal en la formación de un colorante azul natural por medio de una reacción con lisina y glicina.

Este proyecto no busca dar solución a los problemas relacionados al manejo de colorantes de la industria alimentaria y manufacturera. Por el contrario, presenta una nueva oportunidad para el fruto de la *Genipa americana L.* al transformar uno de sus iridoides más abundantes en un producto de origen natural que tenga un mayor aprovechamiento en alimentos.

En el capítulo 1 se abarcará el marco teórico con el fin de contextualizar algunas definiciones necesarias para el entendimiento y la profundización de los objetivos a trabajar, entre estas temáticas se encuentra la descripción, distribución, taxonomía y usos del fruto *Genipa americana L* y su compuesto vegetal genipina. También se describen algunos métodos de análisis físicos y químicos utilizados en frutas y alimentos con la finalidad de determinar las propiedades que contienen. Por otra parte, se departirá sobre los aminoácidos a usar, métodos de extracción y solvente a utilizar, lo cual permitirá obtener el extracto rico en genipina, con la finalidad de poder obtener un colorante azul esencial teniendo en cuenta la variabilidad de colorantes azules y su reglamentación.

En el siguiente capítulo se presentan los principales análisis proximales sensoriales de carácter cualitativo, fisicoquímicos y bromatológicos necesarios a realizar con anterioridad a la extracción, esto con la finalidad de obtener cada dato según el fruto obtenido del municipio ubicado en Bahía Solano, Chocó.

En el capítulo 3 se desarrolla la extracción de genipina y análisis de los extractos obtenidos; mientras que, en la sección posterior se evalúa el rendimiento de los mismos por dos técnicas diferentes. Por último, en el apartado final se realiza la obtención del colorante azul empleando extracto de la jagua y reactivos como la glicina y la lisina que, interactúan con el analito de interés para determinar cuál de ellos es la mejor alternativa para la fabricación de un colorante natural destinado a ser usado en alimentos.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la extracción del compuesto vegetal genipina, proveniente del fruto de la *Genipa americana L.* a escala laboratorio para la obtención de un colorante funcional.

Objetivos específicos

1. Caracterizar las propiedades fisicoquímicas y organolépticas del fruto de la *Genipa americana L.*
2. Establecer las condiciones de operación para la extracción y purificación de la genipina.
3. Evaluar el rendimiento de extracción total obtenido con presencia de genipina.
4. Establecer el aminoácido adecuado para la producción del colorante azul por medio de un diseño de experimentos.

1. MARCO TEÓRICO

Hoy por hoy, se utilizan varias matrices vegetales para obtener una gran variedad de colorantes naturales, desde esta perspectiva, sigue existiendo la necesidad de evaluar nuevas fuentes naturales para la elaboración de colores primarios como el azul, de los cuales pueden desencadenarse otros colores desde el verde hasta el violeta.

Así pues, se plantea el uso del fruto de la *Genipa americana L* puesto que muestra perspectivas prometedoras y se identifica como una fuente poco desarrollada que contiene metabolitos azules para la generación de pigmentos de este color [1].

A continuación, se presenta información relevante conforme con los métodos fisicoquímicos usados para la caracterización de los frutos, el proceso de extracción del metabolito que se desea extraer y la reglamentación de colorante alimentarios azules empleados hasta la fecha.

1.1. *Genipa Americana L.*

Es un árbol de la familia Rubiaceae de tallo recto con aproximadamente 10 a 12 m de altura, de origen amazónico que se extiende por toda América Latina por lo cual lleva su nombre [6]. Es también conocida como tejoruco y jenipapeiro [7].

La planta tiene una tasa de crecimiento rápida y longevidad mayor a los 60 años [8]. Requiere un clima húmedo o seco por lo que necesita crecer en temperaturas entre los 18-28 °C, además de tener un periodo vegetativo de 6 a 8 años [9].

1.1.1. *Taxonomía*

La clasificación biológica de la *Genipa americana L.* fue descrita por Carlos Linneo según la *Tabla 1* que se muestra a continuación:

Tabla 1.
Taxonomía de la Jagua

TAXONOMÍA DE LA JAGUA	
Reino	Plantae
Filo	Tracheophyta
Subfilo	Angiospermae
Clase	Equisetopsida
Subclase	Magnoliidae
Superorden	Asteranae.
Orden	Gentianales
Familia	Rubiaceae
Subfamilia	Ixiroideae
Tribu	Gardeniinae
Género	Genipa L.
Nombre científico	<i>Genipa americana</i> L.

Nota. Esta tabla muestra los niveles de organización de la *Genipa americana* L. Tomado de iNaturalist, “Jagua (*Genipa americana*),” [En Línea]. Disponible: <https://colombia.inaturalist.org/taxa/118965-Genipa-americana> y <https://www.tropicos.org/name/27900116> [Acceso: Feb 09, 2021]

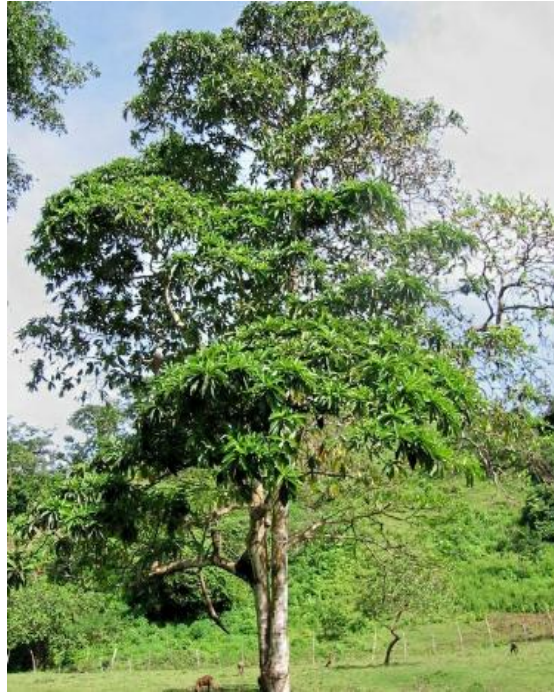
1.1.2. Descripción botánica

La jagua es una planta arbórea caducifolia con estípulas interpeciolares lampiñas, caedizas y acuminadas, su fuste es largo, recto y levemente cilíndrico como se muestra en la *Figura 1*.

En su interior se destaca un color blanco cremoso de textura arenosa, mientras que su corteza exterior es lisa, de ella se despliegan vigorosas y numerosas ramas de forma verticilada[8], [9], [12], [13].

Figura 1.

Árbol de Jagua.



Nota. La figura representa la fotografía del árbol *Genipa americana* L. Tomado de: C. de árboles urbanos en C. por U. y USFS, “Jagua, caruto, huito, jaguo, jigua (*Genipa americana*),” 2018. [En Línea]. Disponible: <https://catalogoarbolesurbanos.eia.edu.co/species/428>. [Acceso: Feb 09, 2021]

A lo largo de sus ramas crecen hojas verticiladas obovadas a oblongas de estructuras simples y complejas entre 10-35 cm de largo. Estas hojas permanecen de forma semicaducifolia en el árbol y cuentan con pecíolos triangulares ovados con estípulas como se evidencia en la *Figura 2*.

El haz de la hoja es de color verde y brillante, mientras que, su envés es de un tono más claro, el margen es liso y entero-sinuoso con un ápice acuminado, agudo, obtuso o cortamente pedunculado y base atenuada. Se caracterizan por ser glabras en ambos lados y lustrosas [9], [12]–[14].

Figura 2.

Hojas de la Jagua.



Nota. La figura representa la Fotografía follaje del árbol *Genipa americana* L. Tomado de: C. de árboles urbanos en C. por U. y USFS, “Jagua, caruto, huito, jaguo, jigua (*Genipa americana*),” 2018. [En Línea]. Disponible: <https://catalogoarbolesurbanos.eia.edu.co/species/428>. [Acceso: Feb 09, 2021]

Agrupadas en las axilas de las hojas se encuentran flores bisexuales de color blanco amarillento con un ligero olor que forman racimos terminales en las cimas como se ilustra en la *Figura 3*.

Generalmente tienen un tamaño variable de 1,2 cm con un cáliz verde lobuloso con corola blanca del cual brotan 5 lóbulos anchos extendidos, que en su mayoría son fecundadas por abejas. Su floración abarca los meses entre mayo y septiembre [8], [9], [12], [13], [15].

Considerando que las hojas y flores se despliegan de la rama del árbol, de igual forma lo hacen frutos en forma de baya globosa comestible con un color que abarca desde el verde hasta el café -según el estado de maduración-; estos comienzan a formarse después de 6 años entre marzo y abril una vez sembrado el árbol como se expone en la *Figura 4*. Sus medidas oscilan entre una longitud de 10 – 12 cm y un diámetro de 7 – 9 cm [8][9][12][15].

Figura 3.

Flor de la jagua.



Nota. La figura representa la flor del árbol *Genipa americana* L. Tomado de: C. de árboles urbanos en C. por U. y USFS, “Jagua, caruto, huito, jaguo, jigua (*Genipa americana*),” 2018. [En Línea]. Disponible: <https://catalogoarbolesurbanos.eia.edu.co/species/428>. [Acceso: Feb 09, 2021]

Figura 4.

Fruto de la Jagua.

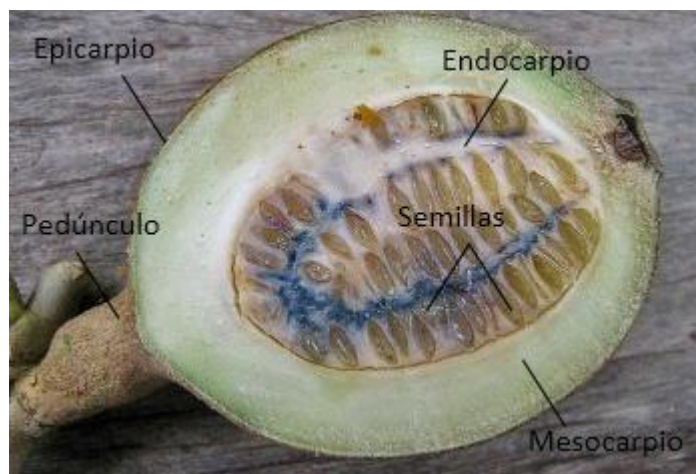


Nota. La figura representa la fotografía de un racimo de frutos del árbol *Genipa americana* L. Tomado de: C. de árboles urbanos en C. por U. y USFS, “Jagua, caruto, huito, jaguo, jigua (*Genipa americana*),” 2018. [En Línea]. Disponible: <https://catalogoarbolesurbanos.eia.edu.co/species/428>. [Acceso: Feb 09, 2021]

El fruto se encuentra dividido en mesocarpio, endocarpio, cáscara y semillas según la *Figura 5*. El mesocarpio es rico en genipósido, un iridoide empleado en Asia para la elaboración de colorantes amarillos; mientras que, el endocarpio representa el $12 \pm 3\%$ de la jagua y es abundante en iridoideos como la genipina. Por otra parte, la cáscara contiene un alto porcentaje de fibra y varía su color de gris, en estado inmaduro, hasta marrón oscuro, en su etapa madura. [16] Las semillas son robustas, pelosas o lampiñas [14] y son unos de los componentes orgánicos que más abundan en la fruta [9]. Se estima que por cada fruto existen entre 50 a 80 de ellas [15] que poseen altas tasas de lípidos y proteínas [16].

Figura 5.

Partes del fruto de la jagua.



Nota. La figura representa la fotografía de un fruto del árbol *Genipa Americana L.* cortado por la mitad. [En Línea].

Disponible:

<https://i.pinimg.com/originals/9a/5b/a1/9a5ba14a36fb8b92161f7286633db035.jpg>. [Acceso: Feb 09, 2021]

1.1.3. Distribución de la Jagua

La distribución geográfica de la jagua es neotropical [17] y abarca desde México hasta Argentina donde recibe diferentes nombres comunes [18].

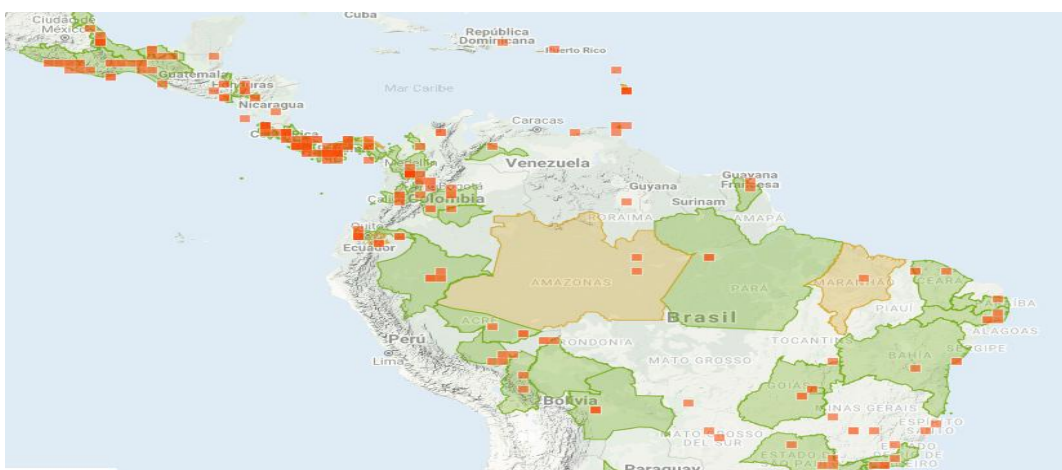
La fruta se extiende en América Central y América del Sur tropical. Es una planta originaria del norte de Sudamérica, el Caribe y sur de México [13]. Es probable que el

origen de la *Genipa Americana L.* sea la Cuenca Amazónica [12] debido a que es una especie heliófila [17] que crece en zonas ecológicas de trópico húmedo o subhúmedo que permanece en vegetaciones como bosques tropicales como se muestra en la *Figura 6* [15].

No obstante, existe evidencia de que el árbol crece en algunas islas y archipiélagos que abarcan a Puerto Rico, Islas Vírgenes, Santo Domingo, Haití, Guadalupe y Trinidad en las Antillas Menores [14].

Figura 6.

Distribución geográfica de la jagua.



Nota. La figura representa el mapa del espacio geográfico en el cual se dispersa el árbol *Genipa Americana L.* Tomado de: iNaturalist, “Jagua (*Genipa americana*),” 2021. [En Línea]. Disponible: <https://colombia.inaturalist.org/taxa/118965-Genipa-americana>. [Acceso: Feb 09, 2021]

1.1.4. Usos

Entre sus utilidades más comunes se emplea la mayoría del árbol para la obtención de madera como provecho de forma común como leña y carbón para combustible [15] o en construcciones de vigas, columnas y pisos. Al mismo tiempo es empleada con el fin de la fabricación de chapas, esculturas, y carpintería. [8][9] Al ser una madera dura, pesada y flexible ha sido utilizada en la elaboración de cajas, culatas de escopeta, arcos de barriles, carretas y hormas de zapatos [17][13].

De manera general, el fruto es destinado a productos de consumo alimenticios como postres, gelatinas, jaleas[9] y para jugos, helados, refrescos, licores o vinos [12]. La fruta contiene propiedades medicinales diuréticas, revulsivas y desobstruyentes. Así mismo, el zumo está indicado contra la enteritis crónica e hidropesía [14].

Las partes del árbol *Genipa Americana L.* se emplean comúnmente para infecciones bacterianas y parasitarias. [18] En algunas zonas se ha considerado la capacidad aromatizante de la flor para obtener aceites esenciales y como infusión medicinal [15][17][12]. Además sus hojas son usadas como adelgazante que tienen propiedades antidiabéticas y antilipídicas, que al ser decoccionadas, disminuyen los niveles de colesterol mientras que, las semillas peladas en emulsión tienen efecto vomitivo rápido y enérgico [12].

Algunas tribus colombianas y panameñas utilizan la fruta como tintura corporal y tinte para herramientas y vestimenta,[17][15] al mismo tiempo, esta es repelente contra insectos y parásitos [12][15].

Algunos estudios muestran que la raíz del árbol posee efectos purgativos[12], mientras que la corteza en decocción puede curar úlceras de origen escorbútico y enfermedades venéreas, además de combatir anemias y regurgitaciones del hígado y del bazo [14].

1.2. Métodos de análisis en alimentos

Los análisis en alimentos son herramientas indispensables para conocer el estado, composición y seguridad de todo producto destinado a consumo para presentar a los consumidores o usuarios la calidad de la misma.

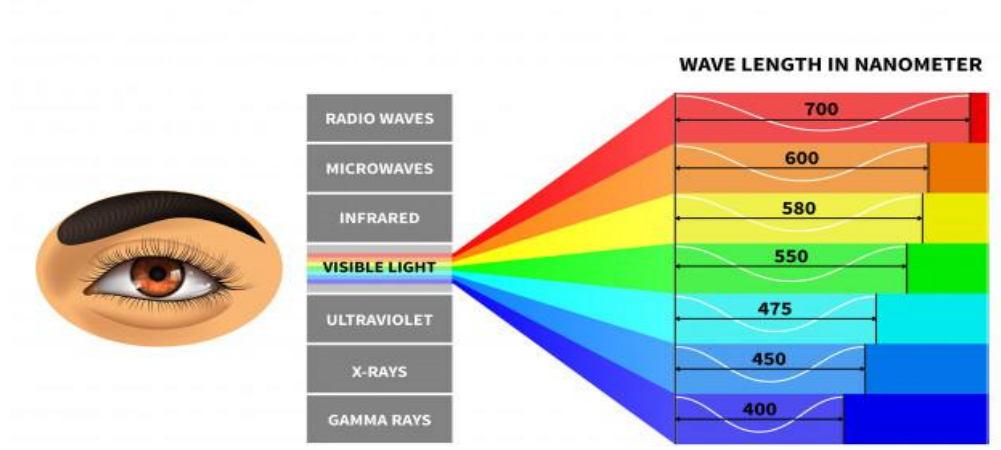
1.2.1. Métodos físicos

1.2.1.a. Color. Es una apreciación física que surge de las diferentes percepciones del ojo humano en longitudes de onda que abarcan el espectro de la luz ente los 400 y 700 nm [19] como se indica en la *Figura 7*.

En los alimentos es un criterio de calidad visible para determinar el proceso de maduración de vegetales, hortalizas y frutas [20].

Figura 7.

Espectro de luz visible



Nota. La figura representa la región del espectro electromagnético que el ojo humano es capaz de percibir. [En Línea]. Disponible: https://www.freepik.es/vector-premium/plantilla-espectro-luz-visible_6958648.htm. [Acceso: Feb 09, 2021]

Es afectado por diversas variables del entorno de medición como la posición del observador, iluminación y espectro, además de algunas propiedades características del objeto como la superficie, tamaño, textura y brillo de la muestra. La medida del color es evaluada para la calidad e inspección de alimentos que puede ser realizada de forma visual o instrumental con un colorímetro o con visión digital [21].

1.2.1.b. Olor. Es un análisis sensorial subjetivo perceptible por el sentido del olfato. En los alimentos es una apreciación de sustancias volátiles fragantes. La mayoría de olores está relacionada con la naturaleza química de los compuestos activos en adición la composición y estructura de cada alimento [22].

1.2.1.c. Sabor. Es una percepción organoléptica que está relacionado con la detección de estímulos amargos, dulces, umami, salado y ácido/agrio por medio del sentido del gusto. En frutas, hortalizas y vegetales favorece al rastreo de cambios bioquímicos como un cambio palpable en el proceso de maduración [20], [22].

1.2.1.d. Textura. Es una manifestación sensorial y una mezcla de elementos relativos a la estructura del alimento con los demás sentidos fisiológicos. Es una prueba funcional de las propiedades mecánicas, estructurales y de superficie detectadas por medio de un análisis sensorial y cinestésica [23], [24]. Para la medición cuantitativa de esta propiedad se utilizan texturómetros y penetrómetros.

1.2.1.e. Densidad. La densidad de frutas, hortalizas, verduras y otros alimentos es determinada a partir del tamaño de sus partículas sólidas, por lo que es necesario distinguir 2 tipos de densidad [25]:

- Densidad real: Es el promedio de la masa por unidad de volumen de las partículas individualmente. Se determina a partir del peso del sólido en el aire y al ser colocada en un medio líquido se indica su desplazamiento [25].
- Densidad aparente: Es la relación entre el peso seco y el volumen incluyendo los poros o huecos de las muestras [25].

Los instrumentos más utilizados para el análisis de densidad en alimentos son las probetas y picnómetros.

1.2.1.f. Índice de refracción. Es el cociente de la velocidad de la luz en el vacío y la velocidad de la luz en el medio en el cuál se efectúa. Se trata de una variable adimensional mayor a 1 [26]. Para determinar esta propiedad es necesario utilizar un refractómetro de Abbe. [26].

1.2.2. Métodos químicos

1.2.2.a. pH. Es un indicador general del estado de un producto debido a que tiene influencia en múltiples procesos de alteración y estabilidad de los alimentos, así como la proliferación de microorganismos [27]. Los alimentos pueden clasificarse como ácidos o alcalinos en una escala del 1 al 14 según la Figura 8 indicando el contenido de hidrógeno en la muestra por medio de un potenciómetro o de tiras de prueba universales [27].

Figura 8.
Escala de pH



Nota. La figura representa los niveles de pH por el grado de concentración de los iones hidronios (H^+), [En Línea]. Disponible <https://concepto.de/wp-content/uploads/2015/03/escala-ph.jpg>. [Acceso: Feb 09, 2021]

1.2.2.b. Acidez tituleable. Es un indicador de la cantidad de ácidos orgánicos y sales contenidos en una fruta, durante los procesos de maduración fisiológica su contenido disminuye [28]. El índice de acidez es una característica importante en la calidad de varios productos industriales como los jugos, vinos, aceites vegetales, plastificantes, entre otros.

Las técnicas para la medición de ácidos grasos libres o mezclas de los mismos [29] se basan en titulaciones directas por solución que emplean reactivos analíticos ácido-base para transformar ácidos débiles y fuertes, o indicadores visuales que emplean señales analíticas como el pH, densidad óptica, etc [29], [30].

1.2.2.c. Sólidos solubles. Es un método de análisis en frutas, hortalizas y verduras para determinar la cantidad de sacarosa presente en la muestra. La medición de esta propiedad se realiza normalmente a temperatura ambiente a través de un refractómetro que indica el porcentaje de peso del monosacárido en la solución acuosa en °Brix [31].

1.2.2.d. Humedad. El contenido de agua en un alimento es de vital importancia en procesos de control de calidad y almacenamiento. Según la naturaleza del producto natural puede contener entre el 60 y 95% de moléculas de H₂O presentes [32].

Para la determinación del porcentaje de agua en los alimentos se realizan procesos de deshidratación a 100-110 °C a presión atmosférica [33]. La metodología estándar suele ser el secado basado en la pérdida de peso de la muestra por la evaporación del agua en un horno o estufa [31].

1.2.2.e. Cenizas. Se define como el material inorgánico que no se volatiliza a una temperatura que fluctúa entre los 500 y 600 °C de una muestra orgánica generalmente en una mufla [31]. En un alimento es un indicador de calidad en el que los residuos inorgánicos provenientes del material orgánico surgen modificaciones por la interacción química de sus componentes o pérdidas por volatilización [29].

1.2.2.f. Proteínas. Son biomoléculas formadas por carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno. Son consideradas polímeros de pequeños monómeros denominados aminoácidos unidas por medio de enlaces peptídicos [32]. A continuación, en la *Tabla 2* se enumeran los beneficios e inconvenientes de los métodos más comunes para su cuantificación.:

1.2.2.g. Extracto etéreo. La grasa bruta es extraída con solvente orgánicos que arrastran los ésteres de los ácidos grasos, fosfolípidos, lecitinas, esteroides, ceras y ácidos grasos libres [29][33].

La cuantificación de los lípidos se realiza por medio extracciones semicontinuas y continuas como el método de Soxhlet y de Goldfish respectivamente. Otras técnicas son el método por lotes, Blight-Dyer, Röse-Gottlieb, Gerber y Mojonnier [29].

Tabla 2.*Ventajas y desventajas de los métodos usados para determinación de proteínas.*

Método	Ventajas	Desventajas
Método de Kjeldahl.	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Es apropiado para varios tipos de productos. ✓ Su alta confiabilidad y disponibilidad. ✓ Está incluido en los métodos aprobados por las organizaciones internacionales. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Llega haber interferencia de compuestos nitrogenados no proteicos. ✓ Durante la digestión se produce demasiado humo. ✓ Uso de catalizadores caros o tóxicos. ✓ Baja sensibilidad. ✓ Tarda demasiado tiempo.
Absorción a 280 nm.	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Rápida y no destructiva. ✓ No se necesitan reactivos. ✓ Alta sensibilidad. ✓ Baja dependencia de la respuesta de la señal a la composición del aminoácido. ✓ Baja interferencia de ácidos nucleicos y nucleótidos. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ La interferencia de otros compuestos que absorban en UV. ✓ Se necesita usar muestras limpias y lámparas relativamente nuevas.
Método de Biuret	<ul style="list-style-type: none"> ✓ No hay interferencia de aminoácidos libres. ✓ Pequeña influencia de la composición del aminoácido en el desarrollo de color. ✓ La operación es simple y se puede manejar un número grande de muestras. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Interferencia de amoniaco, buffer, detergentes. ✓ Baja sensibilidad.
Método de Lowry	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Alta sensibilidad. ✓ Fácil de operar. ✓ Fácil de manejar un gran número de muestras. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Dependencia del color con la composición del aminoácido. ✓ Interfieren un buen número de compuestos. ✓ Inestabilidad del reactivo Folin-Ciocalteau a pH alcalino.

Nota. Esta tabla muestra el paralelismo de técnicas para la medición del contenido de moléculas proteicas. UNAM, "Fundamentos Y Tecnicas Analisis De Alimentos," p. 58, 2008, [En Línea]. Disponible:

http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/FUNDAMENTOSYTECNICASDEANALISISDEALIMENTOS_12286.pdf. [Acceso: Feb 09, 2021]

1.2.2.h. Fibra cruda. Son todos aquellos compuestos orgánicos no nitrogenados que no son insolubles tras hidrólisis continuas en medios ácidos y básicos. Entre los componentes más representativos se encuentra en un 90% la celulosa, y en menor proporción hemicelulosa, lignina y pectina [34].

1.2.2.i. Carbohidratos. Los hidratos de carbono son los compuestos más abundantes en la naturaleza empleados por los seres vivos como fuente y almacenamiento de energía, como elementos estructurales y precursores de la producción de otras moléculas [35].

Estos formados principalmente por átomos de carbono, hidrógeno, y oxígeno según la estructura $(\text{CH}_2\text{O})_n$, que forman fuertes enlaces químicos covalentes. Los glúcidos se clasifican en monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos y polisacáridos [35].

Participan en reacciones de aminación, esterificación, reducción y oxidación [35].

1.3. Genipina.

La genipina es un secoiridoide proveniente de la *Genipa americana L.* y de la planta *Gardenia Jasminoides* que se caracteriza por ser una sustancia polar e incolora [36]. Esta aglicona de fórmula química $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_5$ que fue descubierta en los años 60 como una molécula biodegradable y de origen natural [37].

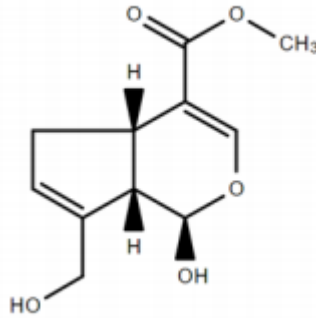
1.3.1. Estructura química

Los enlaces y forma natural de esta molécula le confieren como nombre IUPAC (1R,2R,6S)-2-Hidroxi-9-(hidroximetil)-3-oxabicyclo [4.3.0] nona4,8-dieno-5-carboxilato de metilo) [38].

No obstante, este compuesto también recibe el nombre de éster metílico de ácido 1,4a-alfa,5,7a-alfa-tetrahidro-1-hidroxi-7-(hidroximetil)-ciclopenta(c) pirano-4-carboxílico [39].

Figura 9.

Estructura química de la genipina.



Nota. La figura representa la ubicación y enlaces de los átomos de la sustancia química conocida como genipina. J. C. S. Culma, "Extracción de genipina en planta semipiloto para ser empleado como entrecruzante de hidrogeles.," Univ. ICESI, p. 43, 2017. [En Línea]. Disponible: https://repository.icesi.edu.co/biblioteca_digital/bitstream/10906/83014/1/TG01787.pdf. [Acceso: Mar 19, 2021]

En la molécula se evidencia la presencia de varios grupos funcionales como un grupo carboxilo, éter, éster y alcohol que, en suma, de cada masa por átomo constituye un peso molecular de 226,226 g/mol, con una absorbancia máxima en el espectro ultravioleta a una longitud de onda de 240 nm [40]. La configuración de este metabolito secundario le otorga una naturaleza hidrofílica de forma que, tiene la facilidad de disolverse en solventes polares como el agua, metanol, etanol, éter dietílico, etc [39].

1.3.2. **Propiedades**

En el organismo, el secoiridoide agrupa propiedades farmacológicas en las que actúa como agente antimicrobiano, antioxidante y antiinflamatorio. Entre sus efectos medicinales la genipina es antiproliferativa, [41] anticancerígena, antidepresiva y antidiabética [42], [43].

Algunos de sus beneficios en el cuerpo humano abarcan la protección del hígado, estómago e hipocampo de enfermedades hepáticas, gastrointestinales y neuronales respectivamente, incluso evitando la osteoporosis y afecciones periodontales hasta ser un colerético genuino al ser absorbido en el intestino [44]. Así mismo posee cualidades antiinflamatorias, diuréticas, y hemostáticas [45].

1.3.3. Usos

El compuesto vegetal ha sido empleado a manera de colorante negro aplicado por tribus indígenas en rituales al estar en contacto con el aire y para tintura en telas de paja [6]. Hoy en día, es utilizado en países asiáticos como Japón y Corea para teñir el cabello, en la elaboración de un colorante alimentario y en tratamientos de enfermedades a partir del árbol *Gardenia Jasminoides*, a diferencia de Estados Unidos y la Unión Europea que han aprobado los extractos de la fruta como un aditivo de color más no como un colorante [46].

La genipina es un compuesto versátil en la industria: En el sector textil su aplicación se basa como colorante natural en productos a base de algodón, lana y cuero, mientras que, en el área forense se utiliza como un compuesto que interviene como revelador de huellas dactilares o como agente de reticulación de materiales en investigaciones biomédicas [47]. Este último estudio ha sido ampliamente examinado en sistemas de liberación de fármacos [45] en la búsqueda por reemplazar al glutaraldehído por un compuesto de menor toxicidad [37].

Recientemente la genipina ha sido estudiada con el objetivo de ser hidrolizada a fin de obtener ácido genipídico para producir nuevos colorantes rojos y marrones [48]. Mientras que reacciones del éster iridoide con aminoácidos se han utilizado como sensibilizadores en celdas solares con el propósito de aumentar su eficiencia [49].

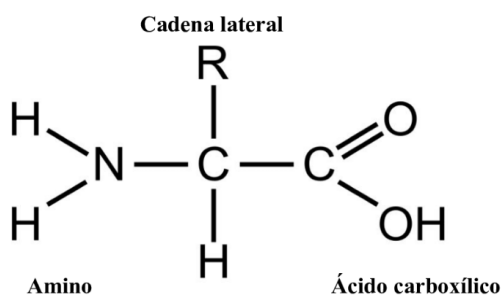
1.3.4. Aminoácidos

La genipina es un compuesto muy activo químicamente, por lo que, al reaccionar con aminoácidos primarios, péptidos y/o proteínas produce un pigmento de diferentes colores dependiendo de las condiciones y la naturaleza de los reactivos de la reacción [4], [50].

Los aminoácidos son moléculas orgánicas que contienen por lo menos un grupo carboxilo y un grupo amino funcional $-NH_2-$, $-NH-$, $-N<$, en su estructura. Se encuentran en estado sólido y poseen altos puntos de fusión, adicionalmente se caracterizan por ser solubles en agua e insolubles en solventes orgánicos no polares [51].

Figura 10.

Estructura química de un aminoácido.



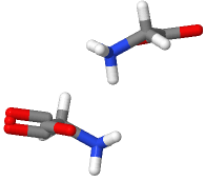
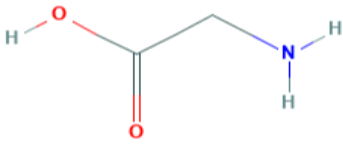
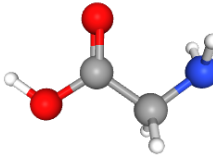
Nota. La figura representa la ubicación y enlaces de los átomos de un aminoácido con un carbono central unido a un grupo carboxílico, un radical amino, un hidrógeno y una cadena lateral. [En Línea]. Disponible https://www.researchgate.net/figure/Figura-13-Estructura-general-de-un-aminoacido_fig2_340793783. [Acceso: Mar 13,2021]

1.3.4.a. Glicina. Es un aminoácido no esencial apolar, neutral, metabólicamente inerte y el más pequeño de todos. Su estructura química se dispone de un átomo de carbono central unido a dos átomos de hidrógeno, a un grupo amino y un ácido carboxílico. Esta molécula no es tóxica en altas dosis y juega un papel importante en la síntesis de biomoléculas importantes como el colágeno o nucleótidos de glucosa, creatina, porfirina y purina, además de contener propiedades antiinflamatorias, citoprotectoras e inmunomoduladoras [52].

La glicina es el aminoácido más simple e importante en la mayoría de mamíferos al aportar efectos beneficiosos en el tratamiento de enfermedades como el cáncer, diabetes, obesidad y trastornos cardiovasculares mejorando la calidad del sueño y funciones neurológicas [52], con propiedades químicas tales como:

Tabla 3.

Propiedades de la glicina.

Glicina		
Estructura cristalina	Estructura 2D	Estructura 3D
		
Formula molecular	C ₂ H ₅ NO ₂	
Nombre IUPAC	Ácido 2-aminoacético	
Otros nombres	Glicocola	
Símbolo químico	Gly,G	
Apariencia	Sólido blanco	
PM	75,07 g/mol	
Densidad	1,161 g/cm ³ (20 °C)	
Punto de fusión	233 °C	
pH	5,9 – 6,3	
Solubilidad	Agua	250 g/l
	Parcialmente soluble	Acetona
	Insoluble	Etanol y éter etílico

Nota. Esta tabla muestra las características de la glicina. Elaborado por los autores. Merck, "Glicina CAS 56-40-6 _ 104201," 2020. NIH, "Glicina | C₂H₅NO₂ - PubChem." [En Línea]. Disponible: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Glycine>. [Acceso: Abr 11, 2021]

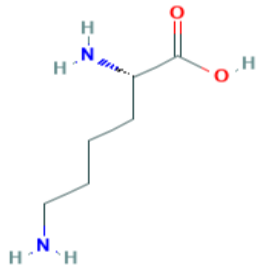
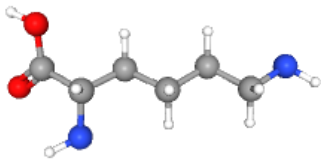
1.3.4.b. Lisina. Es un aminoácido esencial polar, que es un ácido caproico (hexanoico) con dos sustituyentes amino en las posiciones 2 y 6 [53]. Sus propiedades dependen de su forma estereoisomérica o sus formas naturales [54].

La L-Lisina posee un valor comercial más alto que las demás configuraciones de lisina y su principal forma industrial es L-Lisina-HCl. Esta molécula ha sido utilizado como aditivo alimentario para animales de corral como aves y cerdos, y como suplemento en la alimentación de peces [54].

En la *Tabla 4* se presentan sus características químicas más representativas:

Tabla 4.

Propiedades de la lisina.

Lisina		
Estructura 2D	Estructura 3D	
		
Formula molecular	C ₆ H ₁₄ N ₂ O ₂	
Nombre IUPAC	L-Lisina	
Otros nombres	Ácido lisina	
Símbolo químico	Lys, k	
Apariencia	Sólido	
PM	146,19 g/mol	
Densidad	1,28 g/cm ³ (20 °C)	
Punto de fusión	224 °C	
pH	5,5 – 6,0 (100 g/l, H ₂ O, 20 °C)	
Solubilidad	Agua	64,2 g/100 ml
	Insoluble	Etanol , éter etílico , acetona y benceno

Nota. Esta tabla muestra las características de la lisina. Elaborado por los autores. NIH, "LD-Lysine _ C₆H₁₄N₂O₂ - PubChem. [En Línea]. Disponible: "https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/866#section=MeSH-Entry-Terms. Merck, "L-Lisina monohidrato CAS 657-27-2 _ 105700." . [Acceso: Abr 19, 2021]

1.4. Método de extracción

La extracción sólido-líquido es una técnica de tratamiento con solventes para separar o retirar compuestos de una fase homogénea. El propósito de la extracción es recircular los vapores del solvente que se evaporan y ascienden por el extractor y son condensados cayendo gota a gota por acción del refrigerante [55].

Al ser concluido este proceso continuo el solvente es eliminado por diferentes métodos, de los cuales el más común es la evaporación para el posterior pesaje del residuo final y análisis del extracto [56].

1.4.1. Descripción del equipo de extracción

A escala laboratorio se requieren diferentes instrumentos para llevar a cabo la montura de la extracción entre los cuales se encuentran:

- 1) Barra de agitación.
- 2) Matraz de fondo redondo.
- 3) Ruta de destilación.
- 4) Dedal de fibra de vidrio.
- 5) Material sólido.
- 6) Sifón.
- 7) Salida de sifón.
- 8) Adaptador de expansión.
- 9) Condensador.
- 10) Entrada de agua de refrigeración.
- 11) Salida de agua de refrigeración.

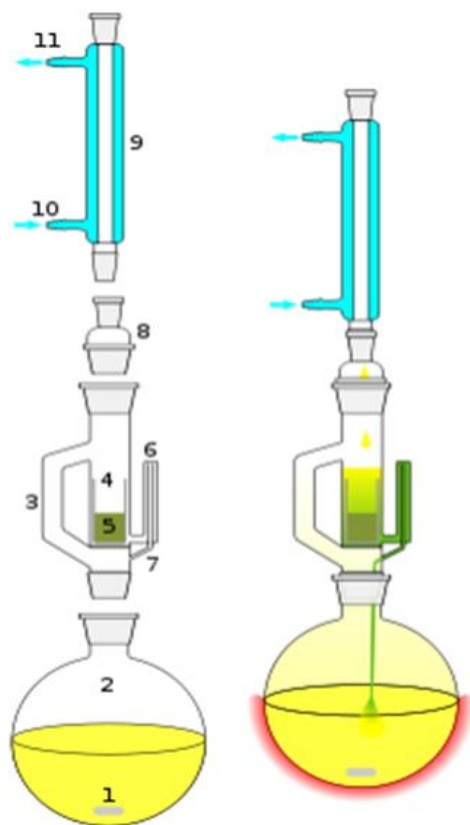
Los anteriores utensilios [64] son empleados para la construcción del aparato Soxhlet como se evidencia en la *Figura 11*.

Inicialmente la metodología requiere de una muestra sólida que se coloca dentro de un portadedal que poco a poco se impregna con el solvente, este se evapora y desciende

del condensador dirigiéndose al recipiente de destilación conocido como matraz de destilación, de manera que, el procedimiento se realice constantemente el tiempo que se requiera [43], [57].

Figura 11.

Partes del extractor Soxhlet.



Nota. La figura representa las piezas del montaje de extracción Soxhlet. V. J. Perez, "Isolation & Characterization of Organic Molecules from Mississippian-age Crinoids by," p. 49, 2013. [En Línea]. Disponible: <https://kb.osu.edu/bitstream/handle/1811/86165/1/VictorPerezSeniorThesis.pdf>. [Acceso: May 02, 2021]

1.4.2. Ventajas y desventajas

El empleo de métodos convencionales de extracción como la técnica de Soxhlet posee beneficios como: La facilidad de operación al ser un equipo de simple procedimiento y tener una instrumentación sencilla dado que no es necesario realizar un seguimiento sobre el estado de la extracción [9].



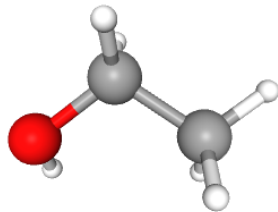
Algunas ventajas significativas comprenden la obtención de altas tasas de recuperación al favorecer el cambio de estado del disolvente además de mejorar la transferencia de masa manteniendo un contacto íntimo y repetido entre la muestra y el solvente. Este último es evaporado evitando el uso de una filtración posterior para la separación del analito [55].

En contraste, este procedimiento requiere altas dosis de solvente y un exceso de energía de entrada para aumentar la temperatura del líquido generando una baja selectividad y degradación térmica de algunos compuestos. En ocasiones, estos últimos contienen trazas del solvente teniendo en cuenta que diversos procesos utilizan solventes tóxicos por largos tiempos de procesamiento que no pueden ser acelerados [58].

1.4.3. Etanol

Es un alcohol orgánico, alquílico, volátil y primario, su estructura química uno de los hidrógenos laterales de la molécula es sustituido por un grupo funcional hidroxilo. Es un compuesto usado generalmente como fármaco antiséptico, desinfectante, metabolito y agente teratogénico [59]; algunas de sus propiedades se describen en la *Tabla 5* a continuación:

Tabla 5.
Propiedades del etanol.

Etanol		
Pictograma de peligro	Estructura 2D	Estructura 3D
		
Formula molecular	C ₂ H ₆ O	
Formula semidesarrollada	CH ₃ -CH ₂ -OH	
Nombre IUPAC	Etanol	
Otros nombres	Alcohol etílico	
Apariencia	Líquido incoloro	
PM	46,06 g/mol	
Densidad	0,79 g/cm ³ (20 °C)	
Punto de ebullición	78,3 °C	
pH	7,0 (10 g/l, H ₂ O, 20 °C)	

Nota. Esta tabla muestra las características del etanol. Elaborado por los autores. Tomado de: NIH, "Etanol - CH₃CH₂OH - PubChem." [En Línea]. Disponible: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/702>. Merck, "Etanol CAS 64-17-5 | 108543." [En Línea]. Disponible: https://www.merckmillipore.com/CO/es/product/Ethanol,MDA_CHEM-108543. [Acceso: May, 2021].

1.5. Colorante

Según la definición de la FDA (Administración de Drogas y Alimentos) un colorante es un aditivo alimentario que comprende cualquier pigmento, tinte o sustancia con la capacidad de otorgar color a un alimento, medicamento, cosmético o para el cuerpo humano [1].

El Ministerio de Salud colombiano en el Decreto 210 de 1983 dispone como colorante a cualquier sustancia o mezcla de sustancias capaz de conferir e intensificar el color de los alimentos [60]. Estos aditivos pueden ser clasificados según su origen, revestimiento y solubilidad [61].

1.5.1. Tipos de colorantes

Los colorantes pueden ser clasificados como naturales libres certificables y sintéticos sometidos a certificación:

1.5.1.a. Colorante natural o exento de certificación. Es una sustancia o mezcla de las mismas producida (s) a partir de materia vegetal o eventualmente de un animal cuyo principio colorante ha sido aislado mediante procesos tecnológicos adecuados [1].

La materia prima para la producción de estos aditivos se obtiene principalmente del reino vegetal y animal, y en segunda instancia del reino monera. Son representativos por ser renovables, biodegradables, sanos y ser productos sostenibles amigables con el medio ambiente [61].

La demanda y producción de este tipo de colorantes es escasa, por lo que es necesario invertir en investigación y desarrollo para poder encontrar abundantes fuentes de colorantes naturales que permitan una aplicación industrial técnica y económicamente viable [61].

1.5.1.b. Colorante sintético o sujeto a certificación. Es una sustancia o mezcla de sustancias que no se encuentra en productos naturales y es obtenida por síntesis orgánica [1].

Estos colorantes se caracterizan por poseer mayor estabilidad y mejor facilidad de manejo a diferencia de los aditivos naturales siendo producidos a un costo más bajo. Sin embargo, algunos pueden causar efectos secundarios tóxicos a corto, mediano o largo plazo una vez sean administrados para consumo humano, mientras que, en aspectos medio ambientales han sido criticados por representar una amenaza al ser dañinos al ecosistema debido a que, pasan al afluente industrial en donde se liberan en cuerpos de agua [61].

Cabe destacar que, existen alrededor de 10.000 tipos de tintes y pigmentos que se emplean en la industria, a la vez que se producen cada año aproximadamente 700.000 toneladas de colorante sintéticos en el mundo [61].

1.5.2. Colorantes azules

El color azul es empleado en la industria de alimentos para consumo humano y animal en alimentos relacionados a algunas bebidas, productos a base de leche, sopa y cereales [47].

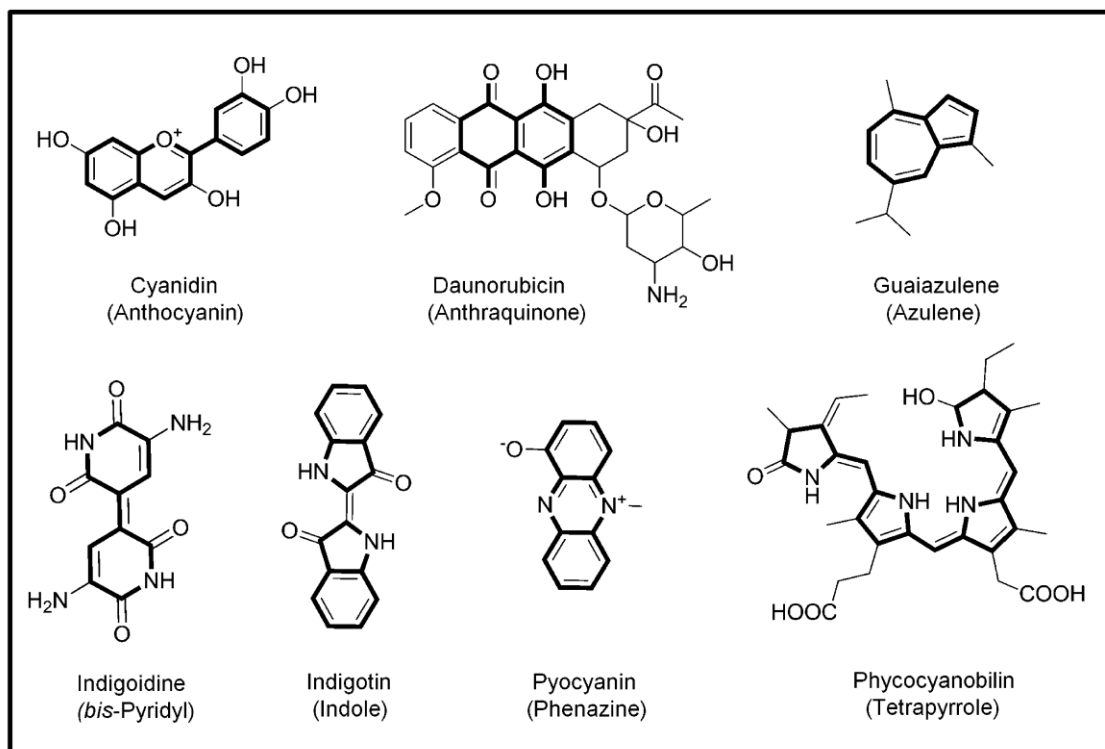
El color azul es un color primario atractivo sensorialmente y deseable, no obstante, muchos de sus precursores y fuentes naturales son escasos, por lo que en la actualidad es difícil igualar los tonos azules naturales con los artificiales [50]. Para la mayoría de compuestos orgánicos el color azul es un fenómeno poco frecuente que surge de la absorción de fotones del rango de luz del espectro visible entre los 560 y 700 nm [61].

En el presente, se estima que el 90% de los pigmentos azules naturales y como se expone en la *Figura 12* pueden ser clasificados en 7 grupos estructurales: Antocianina, indol, antraquinona, tetrapirrol, bispiridilo, azuleno y fenazina [61].

Actualmente existen fuentes confiables de colorantes azules, verdes y rojos como la spirulina, la cual es un alga verde azulada que posee ficocianina en su estructura vegetal, que se emplea como un recurso potencial de pigmentos orgánicos, aunque posee desventajas como su estabilidad a la luz y el calor, además de no funcionar a pH's ácidos. Este compuesto está aprobado en confitería y para bebidas en polvo reglamentado en los Estados Unidos [5].

Figura 12.

Estructuras químicas que representan cada una de las siete clases principales de compuestos orgánicos naturales pigmentados de azul.



Nota. La figura representa las clases compuestas se muestran entre paréntesis. El enlace químico que se muestra en negrilla describe la estructura básica de cada clase. Tomado: A. G. Newsome, B. T. Murphy, and R. Van Breemen, "Isolation and characterization of natural blue pigments from underexplored sources," ACS Symp. Ser., vol. 1138, no. July, pp. 105–125, 2013, [En Línea]. Disponible: 10.1021/bk-2013-1138.ch008. [Acceso: May 1,2021]

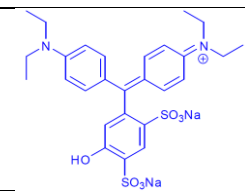
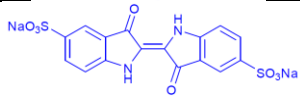
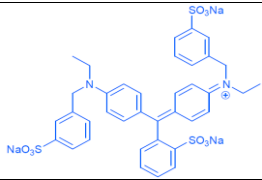
Algunas flores y frutas poseen antocianinas con una amplia gama de colores desde el escarlata hasta el azul con amplios beneficios para la salud, no obstante estos compuestos tienden a modificar el color azul (pH=5-7) por tonos rosados o violetas en los alimentos y líquidos ácidos, de manera que la vitalidad del color desaparece y no se puede mantener [5].

Por el momento se trabajan colorantes como el índigo carmín sintético, un tinte índigoide triarilmetano azul brillante y el azul patente V como se evidencia en la *Tabla 6*. Varias peticiones de aprobación se han presentado en la actualidad aunque han sido

rechazados o restringidas debido a su inestabilidad en condiciones de calor, luz y medios de distinto pH, de modo que, alteran las condiciones de procesamiento, almacenamiento y composición química del alimento [43].

Tabla 6.

Colorantes artificiales azules certificados.

Commercial name	E-number	FD&C	Permitted in EU or US	C.I. Name	Structure
Patent Blue V	E131	None	EU Only	C.I. Food Blue 5	
Indigo Carmine	E132	Blue No. 2	Both	C.I. Food Blue 1	
Brilliant Blue FCF	E133	Blue No. 1	Both	C.I. Food Blue 2	

Nota. Esta tabla muestra los nombres y estructura de los colorantes azules aprobados por la FDA y la ESFA. Adaptado. Tomado de: T. Coultate and R. S. Blackburn, Food colorants: their past, present and future, vol. 134, no. 3. 2018. [En Línea]. Disponible: <https://eprints.whiterose.ac.uk/126336/3/Food%20colorants%20review%20final%20accepted%20version.pdf>. [Acceso: May 1, 2021].

1.5.3. Reglamentación

Para evaluar los riesgos sobre la salud humana se realizó una alianza de la OMS con la FAO estableciendo el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) con el objetivo de comprobar la inocuidad de los aditivos alimentarios. De manera que, cada país autoriza el uso de aditivos, dosis específicas y alimentos concretos de uso asegurando la calidad e inocuidad de los productos destinado a consumo. Cada autoridad nacional debe regular la presencia de estos aditivos y verificar si cumplen su legislación vigente y condiciones autorizadas [62].

1. NORMA GENERAL PARA LOS ADITIVOS ALIMENTARIOS CODEX STAN 192-1995. Adoptado en 1995. Revisión 1997, 1999, 2001, 2003, 2004, 2005, 2006, 2007, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017. La “Norma General del Codex para los Aditivos Alimentarios” (GSFA, Codex STAN 192-1995) establece las condiciones en las que se pueden utilizar aditivos alimentarios autorizados en todos los alimentos, independientemente de que hayan sido regulados previamente o no por el Codex [63].
2. Resolución 10593 de 1985, 10 de septiembre de 1995, "Por la cual se adiciona la Resolución No. 10593 de 16 de julio de 1985, que regula el uso de Colorantes en los alimentos para consumo humano". Artículo 3o. Los colorantes pueden mezclarse y diluirse en los siguientes vehículos, soportes y solventes: Carbonato de Sodio, Bicarbonato de Sodio, Cloruro de Sodio, Glucosa, Lactosa, Sacarosa, Dextrinas, Almidones, Ácidos Cítrico, Tartárico, Láctico, Cera de Abejas, Gelatina, Pectina, Etanol, Glicerol, Sorbitol, Aceites y Grasas Comestibles, Alginatos de Amonio, Sodio y Potasio, Agua, Glicerol Monoestereato, Sulfato de Sodio, Hidróxido de Aluminio. Todos deben ser grado alimenticio [64].
3. Norma Técnica Colombiana (NTC 409), 1978-10-11. INDUSTRIAS ALIMENTARIAS. COLORANTES ADITIVOS PARA ALIMENTOS. Esta norma establece los colorantes permitidos en la industria alimenticia y los requisitos que deben cumplir los mismos, como los límites de impurezas de los colorantes, muestras, recepción de producto, determinación de pureza, empaque y rotulado [65].
4. DECRETO No 002106 DE 1983. Por el cual se reglamenta parcialmente el Título V de la Ley 09 de 1979 en lo referente a identidad, clasificación, uso, procesamiento, importación, transporte y comercialización de aditivos para alimentos. Denominando aditivos para alimentos toda sustancia o mezcla de sustancias, dotadas o no de valor nutritivo, agregada intencionalmente la mínima cantidad necesaria a los alimentos con el fin de impedir alteraciones, mantener, conferir o

intensificar su aroma, color o sabor, modificar o mantener su estado físico general o ejercer cualquier función necesaria para una buena tecnología de fabricación del alimento [66].

5. Resolución 00002674 de 2013. Por la cual se reglamenta el artículo 126 del Decreto Ley 019 de 2012 y se dictan otras disposiciones. La presente resolución tiene por objeto establecer los requisitos sanitarios que deben cumplir las personas naturales y/o jurídicas que ejercen actividades de fabricación, procesamiento, preparación, envase, almacenamiento, transporte, distribución y comercialización de alimentos y materias primas de alimentos y los requisitos para la notificación, permiso o registro sanitario de los alimentos, según el riesgo en salud pública, con el fin de proteger la vida y la salud de las personas [67].

2. ANÁLISIS DEL FRUTO DE LA *GENIPA AMERICANA L.*

El fruto de la *Genipa americana L.* fue recolectado en Bahía Solano, un municipio del departamento de Chocó-Colombia. Se optó por escoger los frutos que se encontraban en las ramas del árbol aparentemente en estado inmaduro debido a que, el compuesto de interés se encuentra en mayor proporción en la fruta verde.

Los 60 frutos de jagua recolectados se depositaron en una caja térmica con espuma de poliestireno y gel refrigerante para cadena de frío BIOTHERMICS previamente congelado durante 36 horas. Las bayas se trasladaron a la ciudad de Bogotá D.C. almacenadas en congelación a las mismas condiciones a una temperatura oscilante entre los -3 °C y -5 °C, para evitar pérdidas por maduración indeseada y limitar la reticulación de genipina con las proteínas de la fruta.

La jagua se refrigeró hasta ser empleada en la extracción Soxhlet y ser utilizada en análisis fisicoquímicos y organolépticos como una exploración de estudios para contrastar la caracterización de los frutos previamente empleados en bibliografía y el fruto recolectado.

2.1. Análisis sensorial cualitativo

Para la evaluación de estos exámenes se seleccionó un grupo de 10 panelistas, en función de determinar el color, olor, sabor y textura de la jagua utilizando un test sensorial. Se utilizaron 2 frutos de un mismo racimo descongelados a temperatura ambiente, el análisis se realiza utilizando una única baya por cada 5 panelistas con el objetivo de eliminar diferencias perceptibles por los efectos de uso de diferentes materias primas; las jaguas se seleccionaron sin defectos físicos y sin su pedúnculo de forma no probabilística.

El análisis sensorial consiste en evaluar las características de la jagua, por medio de un análisis estadístico aplicando pruebas de aceptabilidad con escala continua. Para

realizar este análisis se utilizará un test en el cual se detallarán las características evaluadas para cada uno de los degustadores.

La población de estudio abarca un total de 10 panelistas de la ciudad de Bogotá, la mitad de ellos de sexo femenino y el restante en personas del sexo opuesto entre los 18 y 50 años. Previo a la evaluación de los frutos, en conjunto los jueces fueron capacitados por los investigadores según la NTP ISO 5492 del 2008 [68] e indagados en factores relacionados a la salud que puedan afectar la veracidad del examen; ningún encuestado reconoció fumar durante los últimos 5 días, además únicamente un hombre y una mujer confesaron tener problemas visuales de astigmatismo y miopía respectivamente.




























Se realizaron pruebas de aceptación para las siguientes variables independientes estableciendo como variable dependiente la aceptación organoléptica del fruto no para su consumo sino para la extracción de genipina por medio Soxhlet.

2.1.1. Color

La determinación de color se realizó para el mesocarpio, endocarpio y epicarpio según la *Tabla 7*. Se colocaron 10 platillos rotulados y numerados con rodajas gruesas de la fruta, por consiguiente, se utilizaron 3 círculos cromáticos cuestionando al panelista acerca del color percibido por su sentido de la vista.

Tabla 7.

Prueba y análisis de color para las diferentes partes de la fruta.

Parte de la fruta	Panelista									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Mesocarpio	B				B	B				
Endocarpio										
Epicarpio										

B= Blanco

Nota. Esta tabla muestra el resumen de los colores registrados por los 10 panelistas en las hojas de cata.

Al analizar las respuestas seleccionadas en la prueba tres de los diez panelistas percibieron el color blanco en la pulpa de la fruta, a la vez que tres grupos de dos personas seleccionaron un color naranja amarillento, amarillo verdoso y azul; sin embargo, una sola persona seleccionó un color azul violáceo.

Respecto al color del endocarpio de la fruta que contiene las semillas de la fruta la mitad de los encuestados reconoció un color naranja amarillento, aunque las demás personas percibieron colores distintos cada uno observó desde el amarillo y el azul en diferentes tonos hasta el color verde.

En la distinción del color de la cáscara de la fruta el 90% de los panelistas observó el color rojo violáceo en el círculo cromático el cual es el más cercano al color café característico del epicarpio.

Cabe resaltar que, al preguntarle a los encuestados la elección de su respuesta solo uno de los panelistas reconoció marcar sus respuestas al azar. A pesar de los problemas visuales de dos de los jueces sus respuestas fueron similares con los demás jurados por lo que no representan una desviación significativa.

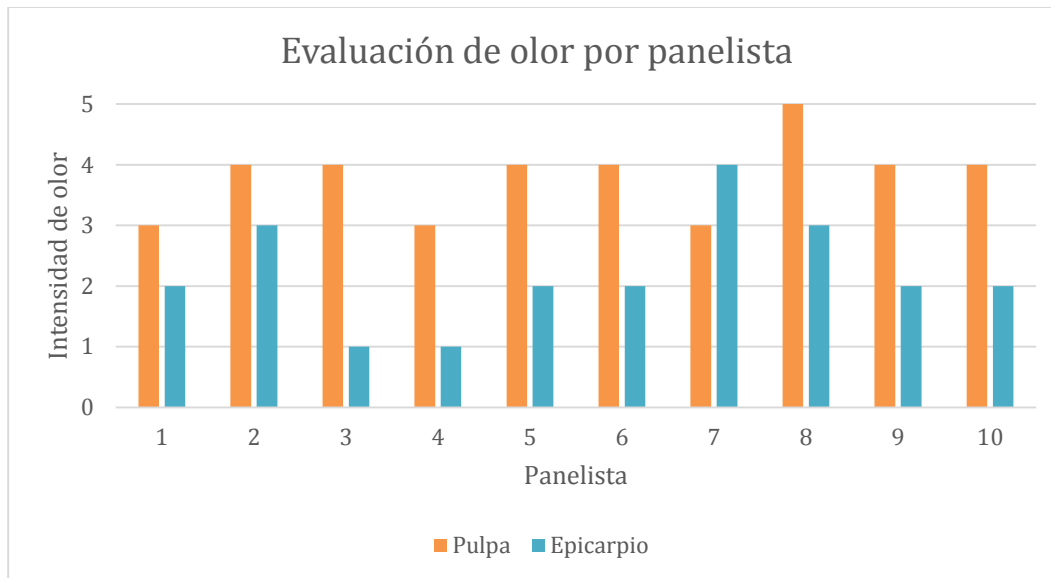
Es necesario resaltar este parámetro, debido a que permitió denotar las posibles reacciones químicas originadas en la fruta, tras ser sometida al proceso térmico de congelación y posteriormente permanecer a una temperatura ambiente, es decir, al entrar en contacto con aire y luz, pudo generar una posible oxidación de la misma y alcanzar a madurar o degradarse.

2.1.2. Olor

Para la prueba de olor se les solicitó a los panelistas emplear el sentido del olfato para la percepción de componentes volátiles de forma que se desencadenen una serie de sensaciones olfativas en función de una escala del grado de intensidad del olor percibido donde 0 es sin olor y 5 es muy fuerte. Se empleó una sola porción de fruta cortada de forma transversal y la cáscara cortada de la jagua.

Figura 13.

Resultados de olor para las diferentes partes de la fruta.



Nota. La figura representa la muestra el resumen de los olores registrados por los 10 jueces en las hojas de cata.

Al someter a los jurados a una percepción sensorial de la pulpa de la fruta, de acuerdo a la *Figura 13* el 60% de ellos seleccionó un olor fuerte proveniente de la misma; entre tanto, el 30% notó fácilmente la intensidad de la jagua, a pesar de que, una sola persona distinguió un olor muy fuerte. En relación al epicarpio el 70% de los panelistas diferenció un olor débil y muy leve, en comparación con el 30% restante que percibió una intensidad fácilmente notable y fuerte.

Cabe resaltar que, los resultados obtenidos pueden variar debido a las condiciones de temperatura, humedad, tiempo de exposición y grado de atención del fruto *Genipa americana L.*, afectando el olor percibido por los animales y seres humanos, para su posterior consumo y por lo tanto esto influye en la aceptabilidad del alimento y posterior manipulación.

Por otra parte, para estudiar los olores de la genipa, es necesario extraer los componentes aromáticos y analizarlos, antedicho este proceso es complicado, debido a

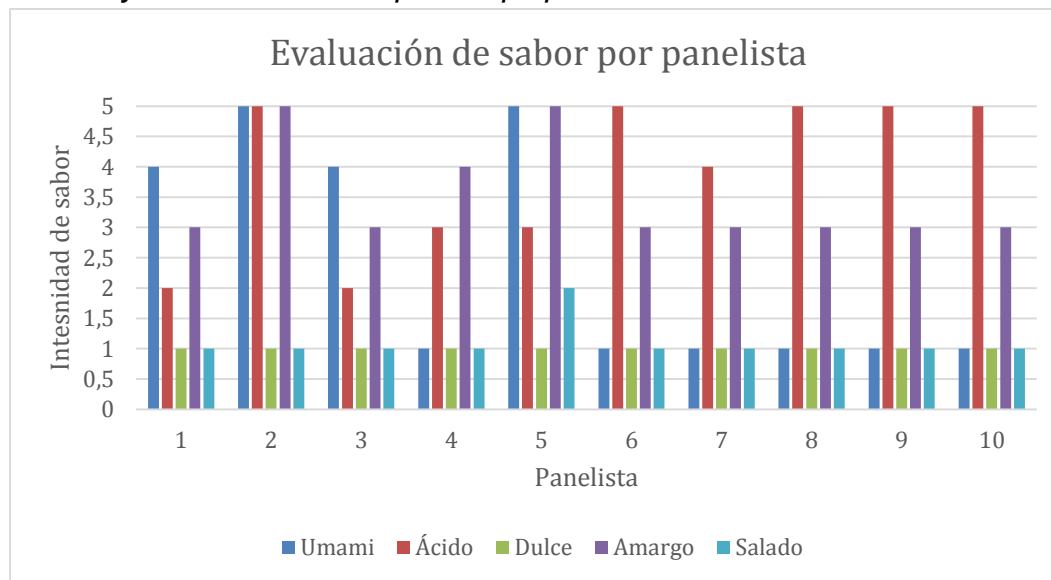
que algunas de las sustancias volátiles son responsables por el olor que se percibe por medio del sentido del olfato.

2.1.3. Sabor

Con el propósito de determinar la sensación de dulzor y acidez que bosquejan los análisis de azúcares y ácidos contenidos en la fruta se instó a los jurados a evaluar las muestras de jagua cortada en trozos por medio de las sensaciones dentales, linguales y palatales de manera que, se indicarán en una escala de 1 a 5 la percepción de distintos sabores donde 1 es “no perceptible” y 5 es “bastante perceptible” obteniendo los siguientes resultados:

Figura 14.

Prueba y análisis de sabor para la pulpa de la fruta.



Nota. La figura representa el resumen de los sabores registrados por los 10 panelistas en las hojas de cata.

Al poner a prueba a los panelistas el 60% de ellos no reconoció un sabor umami en la fruta en comparación con el 40% que percibió una alta intensidad de este sabor, por otra parte, al evaluar la acidez de la fruta la mitad de los encuestados percibieron características agrias al ingresar la muestra a la cavidad bucal, por el contrario, los demás jueces no lo percibieron de forma significativa.

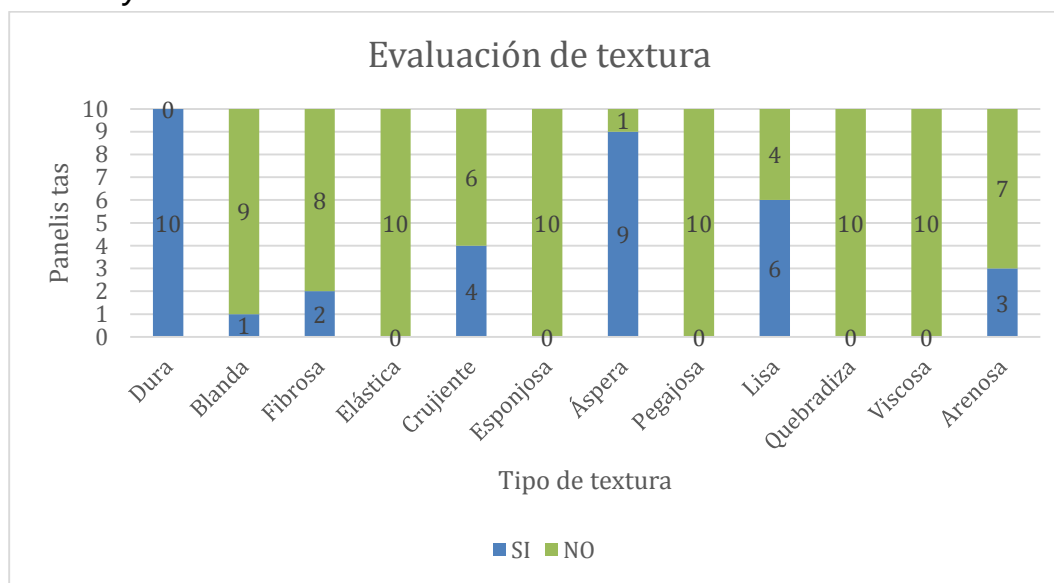
Al cuestionar la captación del dulce y sal de las muestras según la *Figura 14* el 100% de los panelistas concuerda en que son las sensaciones más ausentes en relación a los otros 3 sabores principales. El último sabor del gráfico anterior es representativo y característico de la baya presenciado por la mayoría de la población donde solo tres de ellos destacaron como muy perceptible este sabor.

2.1.4. Textura

Para determinar la madurez y resistencia de los frutos recolectados se empleó un único fruto en la prueba previamente lavado y descongelado. Durante la prueba de sabor se le indicó al panelista que debía masticar al menos 2 trozos de fruta para intensificar los aspectos táctiles de textura.

Figura 15.

Prueba y análisis de textura de la fruta entera.



Nota. La figura representa el resumen de las texturas registradas por los 10 panelistas en las hojas de cata.

Según los resultados de la Figura 15 es posible deducir que, la muestra presentada se trata de una fruta muy compacta y resistente según toda la población muestreada. Al solicitar a los jueces evaluar si su epicarpio es suave el 90% de ellos no reconoció una

sensación blanda y en su lugar notaron aspereza en la cáscara al usar su sentido del tacto.

Todos los hombres y mujeres en este estudio están de acuerdo en que la piel de la jagua no posee características elásticas, esponjosas, quebradizas, viscosas y pegajosas lo que indica que el fruto es robusto y no es de fácil penetración por factores externos al no presentar contusiones o deformaciones en su tejido orgánico.

En cuanto a sus propiedades fibrosas únicamente 2 mujeres registraron que la fruta contenía fibras en su concha, no obstante, es posible que se trate de un error humano, de percepción o de capacitación puesto que el 80% de los encuestados calificó a la fruta con ausencia de fibras similares a las que se presentan el zapote y el coco en su recubrimiento exterior.

En relación a las propiedades crocantes y arenosas de la jagua, el 60% y 70% de los jurados respectivamente calificó la muestra con escasez de este tipo de textura señalando la posibilidad de la existencia de poros o rugosidades en su corteza y que al ser masticado en la zona de las molares se transmite una sensación de ruido al romperse.

2.2. Análisis fisicoquímico

La determinación de la calidad de la fruta se evalúa con el propósito de determinar que las características de la jagua sean apropiadas para la extracción de genipina. Se realizó una revisión bibliográfica de la fruta y sus características con el fin de conocer los parámetros que influyen en la aceptación o rechazo del fruto. Los siguientes análisis fueron desarrollados y comparados con datos de referencia de forma que el fruto sea evaluado de manera objetiva.

2.2.1. pH

La determinación de pH se realizó con un PH700 Benchtop pH Meter según el método A.O.A.C 981-12 [69] en cumplimiento con la NTC440 [70] a una temperatura de 14,9 °C con el fin de conocer el estado de madurez de la fruta, debido a que el contenido total de iridoides disminuye en un 90% durante el proceso de maduración [16].

Esta variable es de vital importancia como un indicador de la calidad, uniformidad y seguridad alimentaria de la fruta además de que es necesario que la fruta cuente con valores bajos de pH debido a que afecta la eficiencia de extracción [37].

Primeramente, el electrodo empleado fue sumergido en una solución buffer de KCl para la calibración del instrumento, después se tomaron frascos de 100 mL con jugo de jagua homogeneizado proveniente de 3 frutos diferentes de la misma y se sumergió el electrodo en cada extracto registrando el pH. El análisis se realizó por duplicado y fue corroborado con un rollo de papel indicador de pH universal.

Tabla 8.

Valores de pH de extractos de pulpa.

# Fruto	1ra réplica	2da réplica
1	4,87	4,81
2	4,85	4,89
3	4,82	4,81

Nota. Esta tabla muestra los resultados del análisis de pH para 3 frutos de Jagua para evaluar su viabilidad en el proceso de extracción de genipina.

Los anteriores resultados se encuentran en una escala ácida señalando valores menores a 7 para el extracto de pulpa de la jagua. Al constatar cada medición con una cinta de pH se obtuvieron valores entre 3 y 5 confirmando el grado de acidez de la fruta promoviendo el desarrollo de pigmento azul tanto en el endocarpio como en el mesocarpio fácilmente visible.

Los valores ácidos indican cambios químicos y físicos relativamente bajos en la maduración de la fruta por lo que es posible que en el proceso de conservación la fruta aún no fermenta en su interior azúcares reductores y no reductores.

Neri Numa [41] y Bentes [71] obtienen resultados similares para la jagua inmadura y Silva [6] muestra valores semejantes para el tratamiento en refrigeración.

2.2.2. Densidad

En un principio, se emplearon 3 frutos distintos y se midió cada masa con ayuda de una Báscula Electrónica Digital Gramera 40 kg. Debido al tamaño de partícula de cada jagua se depositaron en un vaso de precipitados de 600 mL con 300 mL de agua en lugar de una probeta. La densidad real de las jaguas se determinó según el coeficiente del peso individual y el volumen desplazado al sumergir cada una de ellas según la siguiente fórmula:

$$\rho_{fruta} = \frac{m_{fruta}}{V_{desplazado} - V_{inicial}} \quad \text{Ec(1)}$$

Donde m_{fruta} corresponde a la masa de jagua colocada en el recipiente; $V_{desplazado}$ y $V_{inicial}$ indican el volumen de agua movilizado e inicial en reposo al colocar la fruta en el vaso de precipitados respectivamente.

De igual forma se cuantificó la densidad del jugo de fruta después de licuar y filtrar el zumo de cada jagua empleando un picnómetro de 25 mL y realizando el pesaje del mismo en una balanza analítica VIBRA HT (Max /d: 202/0.0001g) seguido del registro de sus pesos con la adición de cada extracto empleando la consecuente ecuación:

$$\rho_{jugo} = \frac{m_{picnómetro+jugo} - m_{picnómetro}}{V_{picnómetro}} \quad \text{Ec(2)}$$

Donde ρ_{jugo} señala a densidad del jugo de Jagua en g/ml, g/cm³, kg/m³, etc; $m_{picnómetro+jugo}$ y $m_{picnómetro}$ indican el peso del picnómetro con el extracto de Jagua y vacío respectivamente; y $V_{picnómetro}$ corresponde al volumen del instrumento.

Este examen se realiza para analizar el tamaño de los frutos y ser comparado con su estado de maduración.

Tabla 9.

Densidad del fruto entero de la Jagua y su jugo.

Fruto				
#	Masa inicial (g)	Volumen inicial (mL)	Volumen desplazado (mL)	Densidad (g/mL)
1	162	300	500	0,8100
2	146	300	470	0,8588
3	112	300	460	0,7000
Jugo				
Volumen picnómetro (mL)			25	
#	Masa picnómetro (g)	Masa picnómetro+jugo (g)	Masa jugo (g)	Densidad (g/mL)
1	21,5064	45,3260	23,8196	0,9528
2	21,5064	45,2974	23,7910	0,9516
3	21,5064	45,2128	23,7064	0,9483

Nota. Esta tabla muestra la densidad de la jagua y jugo de pulpa por medio de métodos físicos gravimétricos.

La densidad se determinó según la *Tabla 9* como un análisis adicional con el propósito de categorizar e identificar este tipo de fruto poco utilizado para el procesado de alimentos o para futuros análisis en la industria.

Además, esta indagación permite confirmar la cantidad de fruta a emplear en el proyecto y asimismo brindar información acerca de la manipulación, preparación, almacenamiento y/o transporte de futuras muestras.

El análisis de la densidad se realizó a temperatura ambiente para el jugo después de filtración según la metodología de Atáres [72] y para la fruta entera según Moscoso y Ochoa a partir del principio de Arquímedes [73] obteniendo los siguientes resultados:

Los resultados de la densidad para los tres frutos enteros difieren con el dato presentado por Nathía-Neves [2], posiblemente por la variabilidad de las bayas empleadas para ambos estudios por la diferencia de tamaño de los mismos.

2.2.3. Acidez tituleable

Se desarrolló según la A.O.A.C 942-15 [74] efectuando un análisis de acidez mediante una valoración a partir de una titulación con una base fuerte empleando como factor apropiado 0,070 para ácido cítrico mono hidrato .

En un comienzo, se cortó la fruta en trozos pequeños hasta obtener el jugo de la fruta; al ser catalogada como una solución ligeramente coloreada se diluye en un vaso de precipitado con 100 mL de la muestra en 250 mL de agua neutralizada, además de 5 gotas de fenolftaleína como indicador. Posteriormente, en la bureta se añaden 20 mL de álcali al 0,1M, los cuales permitirán conseguir neutralizar la muestra. Se empieza a titular hasta que se genere una coloración rosada por 30 segundos y se registran los mL de base gastados durante el proceso de neutralización de la muestra.

$$\% \text{ Acidez} = \frac{\text{ml de NaOH} * N(\text{NaOH}) * \text{Factor ácido cítrico}}{\text{ml de zumo de Jagua}} * 100\% \quad \text{Ec(3)}$$

En la anterior ecuación *ml de NaOH* indica el volumen en mililitros de la base fuerte empleada en la titulación; *N(NaOH)* corresponde a la normalidad de la solución de hidróxido de sodio usada, *Factor ácido cítrico* señala un elemento común de la ecuación y *ml de zumo de Jagua* alude al volumen en mililitros de la muestra a analizar.

Este análisis fue llevado a cabo por un laboratorio externo que notificó una acidez total de 0,629%, valor similar al alcanzado por Neri-Numa [41].

2.2.4. Sólidos solubles

El análisis de sólidos solubles se desarrolló según la NTC440 [70] por medio de un método refractométrico a una temperatura constante para el jugo de 3 frutos diferentes obteniendo un total de 6 réplicas de manera que el estudio se realizara por duplicado.

Este estudio se realizó con un Sper Scientific 300034 Lab Refractómetro Digital Brix 0 ~ 95 utilizando agua desionizada como blanco y posteriormente se tomaron alícuotas menores a 5 mL de jugo de jagua homogeneizado realizando la respectiva lectura para cada muestra presentando bajos valores como se muestra en la *Tabla 10*.

Varios autores han demostrado que el contenido de sólidos solubles tiende a aumentar a medida que la fruta alcanza una etapa de desarrollo que la identifican como madura; según Neri-Numa este incremento es aproximadamente 4 veces más en la fruta madurada que en la fruta verde [41].

A pesar de que los volúmenes de cada muestra presentaron valores con un bajo margen de error es necesario realizar una modificación a los datos obtenidos, debido a una significativa diferencia en la temperatura establecida por la técnica colombiana y la temperatura ambiente en el laboratorio; por lo que, se procede a utilizar una Tabla de

corrección del porcentaje de sólidos disueltos cuando se trabaja a una condición diferente a los 20 °C obteniendo los siguientes resultados:

Tabla 10.

Sólidos solubles totales iniciales y modificados por cambio de temperatura.

Sólidos solubles iniciales		
Temperatura		14.8 °C
# Fruto	1ra réplica (°Brix)	2da réplica(°Brix)
1	4,1%	3,9%
2	4,2%	4,1%
3	4,2%	4,3%
Sólidos solubles corregidos		
#Fruto	1ra réplica (°Brix)	2da réplica(°Brix)
1	3,8016 %	3,6024 %
2	3,9012 %	3,8016 %
3	3,9012 %	4,0008%

Nota. Esta tabla muestra los resultados del análisis de sólidos solubles para 3 frutos de jagua para caracterizar y determinar el estado de maduración de la materia prima en el proceso de extracción.

Estos valores demuestran que conservar los frutos en bajas temperaturas coopera en inhibir el transcurso de maduración de las bayas próximas a ser utilizadas en el proceso de extracción, por lo que se presenta una baja tasa de sales y azúcares como sacarosa [75].

Los análisis realizados difieren de los resultados presentados por Silva [6] a los pocos días de almacenamiento y Hamacek [76] debido a que los frutos empleados para su respectiva caracterización se encontraban en temporada de cosecha.

2.2.5. Índice de refracción

El índice de refracción se estimó con un refractómetro de Abbe, para su uso, se ajustó primeramente el ocular hasta obtener una imagen nítida de la escala ajustada y se colocó una gota de agua destilada que corresponde como blanco a una lectura de 0% [80]; posteriormente se limpió el lente y se colocó una fracción del zumo en el mismo hasta

realizar la lectura en el equipo registrando un valor de 5% °Brix y un índice de refracción de 1,34027.

Tabla 11.

Corrección de temperatura (Comité Internacional de Control de Análisis de Azúcar)

			Lectura refractométrica.														
			0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70
Temperatura del zumo (°C)	10	Corrección (-)	0,50	0,54	0,58	0,61	0,64	0,66	0,68	0,70	0,72	0,73	0,74	0,75	0,76	0,78	0,79
	11		0,46	0,46	0,53	0,55	0,58	0,60	0,62	0,64	0,65	0,66	0,67	0,68	0,64	0,70	0,71
	12		0,42	0,45	0,48	0,50	0,52	0,54	0,56	0,57	0,58	0,59	0,60	0,61	0,61	0,63	0,63
	13		0,37	0,40	0,42	0,44	0,46	0,48	0,49	0,50	0,51	0,52	0,53	0,54	0,54	0,55	0,55
	14		0,33	0,35	0,37	0,39	0,40	0,41	0,42	0,43	0,44	0,45	0,45	0,46	0,46	0,47	0,48
	15		0,27	0,29	0,31	0,33	0,34	0,34	0,35	0,36	0,37	0,37	0,38	0,39	0,39	0,40	0,40
	16		0,22	0,24	0,25	0,26	0,27	0,28	0,28	0,29	0,30	0,30	0,30	0,31	0,31	0,32	0,32
	17		0,17	0,18	0,19	0,20	0,21	0,22	0,21	0,22	0,22	0,23	0,23	0,23	0,23	0,24	0,24
	18		0,12	0,13	0,13	0,14	0,14	0,14	0,11	0,15	0,15	0,15	0,15	0,16	0,16	0,16	0,16
	19		0,06	0,06	0,06	0,07	0,07	0,07	0,07	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
	20		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0	0	0	

Nota. Esta Tabla muestra la Tabla de ajuste para corregir lecturas refractométricas a diferentes temperaturas de la solución. Adaptado. [En Línea]. Disponible: https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1978_25.pdf. [Acceso: May 04,2021]

Para un análisis de mayor precisión es necesario realizar la corrección de la medición según la *Tabla 11*, debido a significativas variaciones por la influencia de la temperatura en la primera lectura para el índice de refracción; de acuerdo con lo anterior el análisis se realizó a una temperatura de 14,8°C en el laboratorio, la cual es de carácter sustractivo por ser inferior a los 20 °C según la norma.

Tabla 12.

Corrección de °Brix según la temperatura ambiente.

Lectura refractométrica		5
Temperatura del zumo °C (Corrección(-))	14	0,35
	14,8	0,302
	15	0,29

Nota. Esta tabla muestra el resultado del valor de corrección a restar respecto a la lectura refractométrica T= 14,8 °C

Este tipo de análisis también es necesario desarrollarlo para verificar el estado de madurez de los frutos cítricos, frutas climatéricas y no climatéricas, además de algunas hortalizas como lo es el tomate, debido a que es una de las características que se consideran en todas las normas, obligatorias o aconsejadas, que se han elaborado para asegurar que de tal forma los frutos satisfagan las exigencias del consumidor respecto a calidad, siendo un determinante del mayor número de rechazos en inspección y, fundamentalmente, de las cualidades gustativas de la fruta [77].

$$\text{Corrección } ^\circ\text{Brix} = 5\% - 0,302 = 4,698\%$$

El valor anterior se alcanzó a partir de una interpolación en la *Tabla 12* que confirma los resultados obtenidos en la cantidad de sólidos solubles obtenidos con un Refractómetro Brix, reafirmando que mantener los frutos a bajas temperaturas permite inhibir el transcurso de maduración de los frutos próximos a ser utilizados en el proceso de extracción.

2.3. Análisis bromatológico proximal

La evaluación química y nutricional de la jagua cruda se establece para comprender la composición de componente y nutrientes presentes en la fruta inmadura. Al ser un alimento es necesario ser evaluado para la producción de un producto destinado a consumo y conocer la funcionalidad del colorante.

Es por ello que, se realizó un estudio bromatológico proximal de la jagua conforme a la humedad, cenizas, grasa bruta, proteína total, fibra cruda y carbohidratos asimilables con BIOPOLAB S.A.; un laboratorio externo ubicado en la ciudad de Bogotá D.C., en el que se suministraron 500 gramos la muestra cruda a una temperatura de 4 °C almacenados en una bolsa plástica. Los frutos inmaduros fueron seleccionados sin defectos en las mejores condiciones de almacenamiento y transporte posibles.

2.3.1. Humedad

La humedad de la jagua se determinó por medio de un secado gravimétrico a 100 °C según la metodología de la A.O.A.C. 931-04 [78].

A partir del reporte suministrado por el proveedor la humedad contenida en las muestras de jagua equivale a 73,7 gramos de agua por cada 100 gramos de fruta. Este resultado es similar a la cuantificación de agua en la fruta para la zona del endocarpio obtenido por Nathía-Neves [16]; de igual forma para los frutos verdes de *Genipa Americana L* según Lárez [38] y para la baya entera obtenido por Rodríguez [36].

Al mismo tiempo, algunos autores obtuvieron datos mayores al 70%, la *Genipa Americana L*. analizada por Porto registró valores de 75% [79], mientras que de Souza registró una proporción de agua alrededor de 93,48% [80].

El resultado obtenido en comparación con otros estudios confirma la fruta en un buen estado de conservación y calidad, ya que la cáscara de la fruta no es susceptible a degradación, por lo que, no es delicado al deterioro microbiano y enzimático externo.

2.3.2. Cenizas

La determinación de cenizas se realizó según la metodología de la A.O.A.C 923-03 sometiendo muestras de 5 gramos de mesocarpio y endocarpio a combustión a una temperatura de 500 °C de forma que la materia orgánica sea oxidada y se obtenga un residuo inorgánico de la muestra durante 3 horas.

Se depositaron las muestras en los crisoles previamente desecados a 100 °C hasta obtener cenizas entre un color morado y blanco, que se dejaron reposar en la mufla 30 minutos adicionales para analizar la pérdida de peso de los crisoles hasta ser constante. La prueba se realizó por duplicado obteniendo los siguientes resultados:

Tabla 13.

Resultados de cenizas para muestras de endocarpio y mesocarpio.

Crisol	Muestra	Peso muestra (g)	Peso seco crisol (g)	Peso seco final de la muestra (g)	Cenizas (%)
1	Mesocarpio	5,0205	20,2316	20,3908	3,171
2	Endocarpio	5,0358	19,3703	19,5526	3,620
3	Mesocarpio	5,0011	17,8214	17,9676	2,723
4	Endocarpio	5,0934	16,3526	16,5472	3,821

Nota. Esta tabla muestra los resultados del análisis de cenizas para ambas partes de la pulpa de las bayas sin incluir semillas.

El dato del porcentaje de cenizas obtenido concuerda con los valores anunciados por Nathía-Neves [16] para el endocarpio más no se reporta en la bibliografía un valor similar para la pulpa de la fruta.

De acuerdo con lo anterior, los resultados de la *Tabla 13* fueron comparados según la metodología A.O.A.C 940-26 [81] con la entidad externa empleando un análisis gravimétrico en el que se calcina la muestra a una temperatura menor a los 525 °C de la fruta entera obteniendo como resultado 1,16 g / 100 g. El valor anterior es idéntico al publicado por Pérez [82] y al de Pacheco [83].

2.3.3. Proteínas

La cuantificación de proteínas se realizó por el proveedor según el método Kjeldahl en consideración de la A.O.A.C 2001-11 Ed 21:2019 [84], el cual consta de tres pasos:

a. Digestión:

En un primer momento, se introducen de 1 a 5 g de jagua en un tubo de mineralización y se colocan 3 g de catalizador (sulfato de potasio + sulfato de cobre). Después se adicionan 10 mL de ácido sulfúrico concentrado y 5 mL de peróxido de hidrogeno. Posteriormente se eleva la temperatura a 420 °C durante 2 a 3 horas.

Una vez que la digestión ha finalizado la disolución adquiere un color verde esmeralda característico, en esta etapa, el nitrógeno proteico es transformado en sulfato de amonio por acción del ácido sulfúrico en caliente que se deja enfriar [81].

b. Destilación:

Después de la digestión se adicionan al tubo de digestión 50 mL de agua destilada en el soporte del destilador y se adiciona una cantidad suficiente de hidróxido de sodio (50%). El amoniaco liberado es arrastrado por el vapor de agua inyectado en el contenido del tubo durante la destilación, y se recoge sobre una disolución de ácido bórico (al 4 % p/v), allí la muestra a obtener se espera que sea de 40 mL aproximadamente [81].

c. Titulación:

Por último, para cuantificar la cantidad de nitrógeno amoniacal se realiza una volumetría ácido-base del ion borato formato titulando con ácido clorhídrico o sulfúrico 0,1 N usando como indicador azul de metileno o fenolftaleína. Se registra el gasto concerniente a los equivalentes al amoniaco destilados [81].

Por medio de las siguientes ecuaciones 4 y 5 se estima el porcentaje de proteínas del fruto de la *Genipa americana L.*

$$\% \text{Nitrogeno} = \frac{(\text{Gasto de HCl}) \times (\text{Normalidad de Ácido Clorhídrico}) \times (\text{Factor del Nitrógeno})}{\text{Peso de muestra seca}} \quad \text{Ec(4)}$$

$$\% \text{Proteina} = \% \text{N} \times \text{Factor de Proteina}(6,25) \quad \text{Ec(5)}$$

En la ecuación 4 %Nitrogeno señala el porcentaje de este compuesto en las muestras a analizar, Gasto de HCl indica el volumen del ácido fuerte, Factor del Nitrógeno señala un elemento común de la ecuación y Peso de muestra seca corresponde a la masa de jagua destinada a su análisis.

Por otra parte, %Proteína señala el porcentaje de estas biomoléculas en la fruta, %N corresponde al porcentaje de nitrógeno de la fórmula anterior y Factor de Proteína es un valor adimensional.

El método empleado por BIOPOLAB S.A. cuantificó 2,18 gramos de proteína por cada 100 gramos de pulpa de fruta, el cual es un dato muy cercano según el estudio de Nathía-Neves [16] para el endocarpio de la fruta.

El análisis de esta propiedad es de vital importancia debido a que define la capacidad de la genipina para producir una sustitución biomolecular de un grupo éster con estas biomoléculas para dar origen a pigmentos azules.

Nathía-Neves en otros estudios reportó para la fruta entera un total de $6,9 \pm 0,2\%$ [2], en su lugar, Pérez determinó una cantidad de 5,2 gramos de proteína por cada 100 gramos de *Genipa Americana L.* [82]. Los anteriores estudios fueron contrastados con un valor de 0,67% de Porto [79], 0,5% de Pacheco [83] y 0,21% de Souza [80] notificando de esta forma que, los resultados reportados por varios autores son diversos para esta propiedad y no son similares entre ellos, posiblemente por el estado de madurez de los frutos o sus condiciones de almacenamiento.

2.3.4. Grasa bruta

El estudio del extracto etéreo fue llevado a cabo por Biopolab S.A. a partir de la técnica empleada por la A.O.A.C 920-39 [85].

El método consiste en pesar 1 g de jagua seca y colocarla en un extractor Soxhlet empleando éter de petróleo como solvente para remover la grasa durante 2 horas a una temperatura de 80 °C, posteriormente la muestra es desecada por el mismo tiempo para promover la evaporación del solvente y se determina la cantidad de grasa según la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Grasa total} = \left(\frac{P_2 - P_1}{P} \right) \times 100 \quad \text{Ec(6)}$$

Donde P_1 es el peso del recipiente con el extracto etéreo o residuo de grasa de la muestra, P_2 el peso del vaso vacío y P el peso de la muestra empleada. El valor de grasa obtenida corresponde a 0,431% en el 100% de la materia seca.

El anterior valor coincide con el resultado alcanzado por Pérez [82] y de Souza [80] presentando valores de 0,3 g/100 g y 0,34% p/p respectivamente, por otra parte Bentes [71] cuantificó en el mesocarpio de la fruta 0,29% p/p y en el endocarpio 0,54% p/p.

Este resultado identifica a la fruta como una baja fuente de lípidos y ácidos grasos.

2.3.5. Fibra cruda

El análisis de fibra fue suministrado por la empresa Biopolab S. A. por medio de la técnica de fibra filtrada por cerámica según el método A.O.A.C. 962-09 [86] reportando un contenido de 4,62 g por 100 gramos de fruta empleada, un mínimo valor que no es digerible por el cuerpo humano.

El método consiste en calcinar de 2 a 3 gramos del residuo secado de la prueba de grasa anterior sometiendo la fruta a una hidrólisis ácida con H_2SO_4 para extraer azúcares y almidón, seguido de una hidrólisis alcalina para eliminar proteínas, hemicelulosa y lignina con NaOH . El total de fibra se cuantifica por diferencia de peso de los crisoles después de lavar las muestras en HCl y éter de petróleo [87].

Esta propiedad no es considerada en análisis de composiciones para la fruta en datos bibliográficos de otros autores, en su lugar se presentan estudios de la fibra dietaria, por lo que, posee baja trascendencia en la alimentación humana y no ofrece una información completa del contenido de fibra total, sin embargo, a mayor cantidad de fibra presente en las bayas aumenta la complejidad del proceso de extracción [43].

2.3.6. Carbohidratos

El análisis de carbohidratos fue suministrado por la empresa Biopolab S. A. realizado por medio de un cálculo con el método AOAC 986.25 [88].

El contenido de carbohidratos es posible obtenerse a partir de diferencia de pesos o de porcentaje por medio de la ecuación 7:

$$\%CHO = 100 - (\%Humedad + \%Grasa + \%Cenizas(O_2) + \%Proteinas) \quad Ec(7)$$

Los términos de la anterior ecuación corresponden a los resultados de las otras propiedades previamente determinadas.

De acuerdo con los resultados de humedad (73,7%), grasa (0,431%), cenizas (1,16%) y proteínas (2,18%) otorgados por el laboratorio se obtuvo un total de 22,529 % p/p que representan los gramos de hidratos de carbono por 100 gramos de fruta.

El anterior valor es semejante al reportado por Porto [79], sin embargo, esta propiedad depende de los resultados de las demás variables según el tipo de jagua.

2.3.7. Aporte calórico

El análisis de valor energético se realizó por medio de la siguiente ecuación según el Factor Atwater [76].

$$VE = g \text{ Carbohidratos } \left(\frac{4 \text{ kcal}}{g} \right) + g \text{ Lípidos } \left(\frac{9 \text{ kcal}}{g} \right) + g \text{ Proteínas } \left(\frac{4 \text{ kcal}}{g} \right) \quad Ec(8)$$

En la fórmula anterior VE es la cuantificación del valor energético de la Jagua, $g \text{ Carbohidratos}$, $g \text{ Lípidos}$ y $g \text{ Proteínas}$ indican la masa en gramos de estas biomoléculas en la fruta de acuerdo a su factor de conversión.

Según el anterior resultado de carbohidratos (22,529 g), grasa bruta (0,431 g) y proteínas (2,18 g) el dato obtenido por el proveedor para esta propiedad es de 102,999 kcal/100 g, este valor es semejante al del estudio de Pérez [82] y Tenesaca [39] que señala la jagua como un alimento de alto aporte a la nutrición humana y animal.

A continuación, se presentan en la *Tabla 14* los resultados obtenidos para el examen organoléptico, el estudio fisicoquímico y el análisis bromatológico proximal:

Tabla 14 .

Resumen del estudio sensorial, fisicoquímico y bromatológico de la Jagua.

PROPIEDADES DEL FRUTO INMADURO DE LA <i>GENIPA AMERICANA L.</i>						
PARÁMETRO	MÉTODO	NORMA	PARTE DEL FRUTO	RESULTADO	UNIDADES	
ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO CUALITATIVO.						
Color	Físico	NTP ISO 5492 del 2008	Mesocarpio	30% Blanco 20% AV 20% Amarillo 20% Azul 10% AzV	- - - - -	
			Endocarpio	50% AN 20% Azul 10% Amarillo 10% Verde 10 % AV	- - - - -	
			Epicarpio	90% RV 10% Verde	- -	
Olor	Físico		Mesocarpio	Fuerte	-	
Sabor	Físico		Epicarpio	Débil	-	
			Mesocarpio	40% Umami 50% Ácido 50% Amargo	- - -	
Textura	Físico		Epicarpio	100% Dura 10% Blanda 20% Fibrosa 40% Crujiente 90% Áspera 60% Lisa 30% Arenosa	- - - - - - -	
				ANÁLISIS FISICOQUÍMICO.		
pH	Químico		A.O.A.C 981-12	Zumo de fruta	4,84±0,03	-
Densidad	Físico	-	Zumo de fruta	0,95±2,35E-3	g/mL	
			Fruto entero	0,79±0,08	g/mL	
Acidez tituleable	Químico	A.O.A.C 942-15	Zumo de fruta	0,63±0,00	%	
Sólidos solubles	Químico	NTC440	Zumo de fruta	3,83±0,14	°Brix	
Índice de refracción	Físico	-	Zumo de fruta	1,34±0,00	-	
ANÁLISIS BROMATOLÓGICO PROXIMAL.						
Humedad	Químico	A.O.A.C. 931-04	Fruto entero	73,7±0,00	%	
Cenizas	Químico	A.O.A.C. 923-03	Mesocarpio	2,95±0,32	%	
			Endocarpio	3,72±0,14	%	
Proteínas	Químico	A.O.A.C. 940-26	Fruto entero	1,16±0,00	%	
		A.O.A.C 2001-11 Ed 21:2019	Fruto entero	2,18±0,00	%	
Grasa bruta	Químico	A.O.A.C 920-39	Fruto entero	0,43±0,00	%	
Fibra cruda	Químico	A.O.A.C. 962-09	Fruto entero	4,62±0,00	%	
Carbohidratos	Cálculo aritmético	A.O.A.C 986-25	Fruto entero	22,53±0,00	%	
Aporte calórico	Cálculo aritmético	Factor Atwater	Fruto entero	103,00±0,00	%	

AV=Amarillo verdoso; AzV=Azul violáceo; AN=Amarillo-naranja; RV=Rojo violáceo

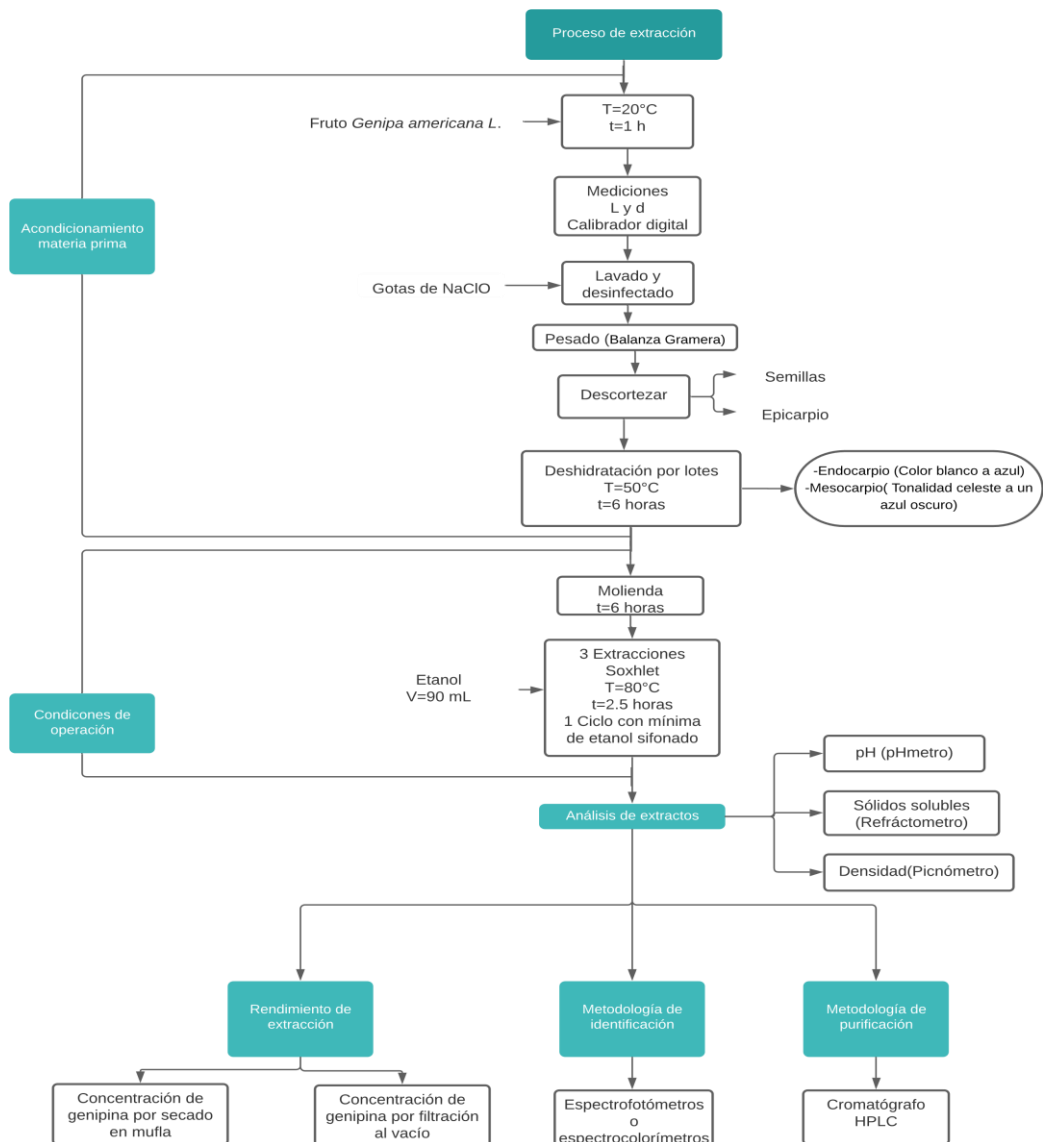
Nota. Esta tabla muestra la síntesis de los resultados para las propiedades de las Jagua inmadura.

3. PROCESO DE EXTRACCIÓN

Con el fin de separar la aglicona conocida como genipina de la materia prima utilizada a continuación se expone en la *Figura 16* la metodología empleada desde la preparación de los frutos y la extracción Soxhlet a escala laboratorio hasta abordar técnicas teóricas que permitan la identificación y purificación del secoiridoide.

Figura 16.

Diagrama de bloques del proceso de extracción, identificación y purificación de genipina.



Nota. La figura representa el paso a paso del proceso de extracción, identificación y purificación de genipina.

3.1. Impacto social, económico y ambiental del uso de la Jagua como materia prima

Respecto a los efectos sociales, económicos y ambientales de la recolección y posteriores tratamientos del fruto *Genipa americana L.*, se estima que el desarrollo de este proyecto y similares, involucra el trabajo con comunidades afrodescendientes, indígenas y campesinas en diferentes zonas y ecosistemas del país, promoviendo y apoyando el desarrollo de procesos de organización empresarial y formalización de la actividad productiva a causa de la gran cantidad de los frutos que no son aprovechados y se presentan pérdidas materiales y económicas del mismo.

En relación a la comercialización local del fruto inicialmente se recibe el pedido y se decide el lugar de compra de la jagua de acuerdo al inventario de árboles productores de *Genipa americana L.*, posteriormente los cosechadores recolectan el fruto en los árboles silvestres y se costea a las familias poseedoras de los árboles. Posteriormente, es transportado hasta la ciudad más cercana y allí son despachados al comprador.

Para llevar a cabo este asunto se hace necesaria la intervención de la Fundación Espavé, Consejo Comunitario Mayor de la Asociación Campesina Integral del Atrato (Cocomacia) y la jurisdicción de Codechocó, debido a que, dentro del desarrollo de esta cadena de suministro se debe llevar a cabo el cumplimiento de la normatividad laboral en una zona aislada y con altos costos de transporte [89].

Ambientalmente se desarrollan prácticas de aprovechamiento, procesos sociales y organizativos sostenibles con el cumplimiento de los principios y criterios del Biocomercio en aspectos tales como conservación y uso sostenible de la biodiversidad, distribución justa y equitativa de beneficios, cumplimiento normativo y responsabilidad social y ambiental [89].

3.2. Acondicionamiento de la materia prima

Los frutos se mantuvieron a temperatura ambiente aproximadamente por una hora después del enfriamiento, se lavaron y se reposaron en agua con unas pocas gotas de hipoclorito sódico. La fruta es secada con toallas de cocina para eliminar cualquier tipo de contaminación por suciedad, polvo, tierra o partes de insectos [90]. Cada jagua fue rotulada y pesada con y sin cáscara en una báscula electrónica digital gramera 40 kg. previamente con ayuda de un calibrador digital electrónico de 0-150 mm 6" PRD se determinaron las dimensiones de longitud y diámetro.

Cada fruto se descortezó con un cuchillo metálico, se retiraron las semillas y se cortaron en trozos de máximo 3 cm. Las partes de la jagua se deshidrataron en un horno de estufa a una temperatura de 50 °C por un tiempo de 6 horas hasta sequedad.

Los ingresos de pulpa se cuantificaron según la ecuación de Hamaceck [76].

El proceso de deshidratación se simuló en condiciones de secado constante por lotes, por lo que se modificó la siguiente ecuación de Geankoplis para determinar el porcentaje de humedad [91].

$$X_t = \frac{W - W_s}{W_s} \frac{\text{kg total } H_2O}{\text{kg sólido seco}} \quad \text{Ec(9)}$$

Donde W es la masa total del sólido húmedo o sólido seco más humedad, W_s es la masa de sólido seco en determinado tiempo t en horas, y X_t es la relación entre la masa del agua y la masa del sólido seco a ese tiempo.

$$\%H = \frac{W_h - W_s}{W_h} \times 100 \quad \text{Ec(10)}$$

La determinación de humedad se evaluó, por lo tanto, según la ecuación anterior donde W_h es la masa del sólido húmedo y W_s es peso de la jagua seca en determinado tiempo t de secado evidenciando los resultados de la *Tabla 15*.

Los frutos evidenciaron un cambio repentino en el color de la pulpa y endocarpio a medida que se mantenían dentro del horno, inicialmente el color blanco amarillento del endocarpio tornó rápidamente de blanco a azul en la primera hora lo que reafirma la reacción catalizada por temperatura de la formación, mientras que el mesocarpio cambió de una tonalidad celeste a un azul con una tonalidad oscura similar al café.

Tabla 15.

Resultados obtenidos para el análisis de humedad y dimensiones promedio de la jagua

Nº	Masa (g)						Humedad (%)	Diámetro (mm)	Largo (mm)
	Total inicial	Ingresos pulpa	Cáscara	%Cáscara	Total final	Agua pérdida			
1	180	124	56	31	34	146	81	66,4	81,83
2	172	126	46	27	30	142	83	62,92	83,48
3	168	110	58	35	32	136	81	63,45	79,31
4	176	114	62	35	32	144	82	64,93	80,68
5	192	122	70	36	34	158	82	65,57	84,44
\bar{x}	177,6	119,2	58,4	32,8	32,4	145,2	81,8	64,65	81,95

Nota. Esta tabla muestra las masas antes y después del proceso de secado y medidas del fruto de jagua (*Genipa americana* L.).

Los anteriores resultados son equivalentes a los reportados por Hamaceck [76] y Bentes [92] para el endocarpio y mesocarpio de la fruta verde en estado inmaduro.

3.3. Elección del disolvente

En el sistema de extracción se realizó la preparación del solvente, el líquido fue escogido según la polaridad del analito de interés, y al ser un compuesto que interviene en productos destinados para alimentos la elección fue determinada asegurando la calidad, inocuidad y seguridad de consumo.

En relación con lo anterior, se postularon los siguientes solventes reconocidos como seguros GRAS según la FDA [93]: El éter de petróleo fue sugerido para la extracción de genipina debido a su bajo punto de ebullición que disminuiría el efecto degradativo de la genipina y su polimerización con las proteínas de la fruta; acetato de etilo por su uso en la producción de tintas y como saborizante y por último, alcoholes como el etanol, metanol, y acetona para realizar la extracción.

Es necesario el estudio de los solventes enunciados anteriormente, puesto que, la relación de muestra y líquido afecta proporcionalmente al rendimiento de extracción [37]. El éter de petróleo fue excluido del proceso de extracción debido a que es empleado para la cuantificación de grasa de las muestras, por lo que la concentración del analito posiblemente sea menor.

Por otra parte, el acetato de etilo fue descartado por ocasionar daños a largo plazo en el hígado y riñones del cuerpo humano [94] a la vez que, junto con la acetona fueron excluidos por ser sustancias químicas controladas para la producción de estupefacientes en el país [95].

Finalmente, el etanol al 99% fue seleccionado por ser una sustancia regulada por la FDA como ingrediente alimentario en forma de aditivo [96], además de ser empleado en otro tipo de extracciones no convencionales por medio de líquido presurizado PLE y altas presiones HHP [43].

Este compuesto es reconocido generalmente como seguro, lo que confiere al extracto final una mayor pureza y menor toxicidad [16], asimismo no se consideran en la literatura cambios significativos en la eficiencia de extracción con otros disolventes [82].

3.4. Condiciones de operación

Una vez retirados del horno los frutos en rodajas, se procede a la molienda de la muestra seca del fruto *Genipa americana L.* con un mortero machacador de madera, hasta obtener gránulos de pequeños y diferentes tamaños de partícula, al caracterizarse a manera de una baya compacta y resistente como se determinó en el capítulo anterior, este proceso requirió más de 6 horas para macerar en totalidad las muestras.

Se empleó este tipo de molienda manual por recomendación de otros autores que han triturado la pulpa y semilla de la Jagua usando una licuadora industrial y que han empleado extracciones de percolación e inundación, allí resaltan que, es importante considerar un menor tamaño de partícula para mejorar la transferencia de los pigmentos contenidos en la matriz vegetal a la fase líquida (solvente) teniendo en cuenta: La difusión del solvente en la matriz sólida, la difusión y convección de solutos al medio; y la transferencia de masa de la interfase a la corriente de solvente [97], [98]

Cabe resaltar que, debido a factores externos que se presentaron e impidieron mejorar la obtención de la muestra seca con mejores tamaños de partícula, entre ellos la contingencia sanitaria ocasionada por el COVID-19, la cual no permitió que al momento de realizar este proceso fuera posible utilizar un molino triturador de alimentos que facilitara la trituración de la jagua seca.

Los siguientes experimentos se llevaron a cabo en los laboratorios de la Universidad de América ubicados en la ciudad de Bogotá D.C. en el mes de marzo a una temperatura y presión ambiente.

Las relaciones S/F se determinaron variando la masa de las bayas y manteniendo constante el volumen de solvente. Cabe resaltar que, la relación disolvente-sólido es una

variable directamente proporcional que afecta la recuperación de genipina [41], por lo que, se realizaron 3 extracciones por duplicado con el menor tamaño de partícula posible para mejorar el área de contacto entre el sólido y el alcohol.

En primer lugar, se pesaron 30 g, 60 g y 90 g de muestra homogenizada con una precisión de ± 1 mg en un cartucho de extracción fabricado con papel filtro formando un cuadrado de aproximadamente un 12,5 cm de lado como se muestra en la *Tabla 16*. Cada muestra se cerró y plegó hasta quedar completamente empacada formando un pequeño cartucho.

En relación con lo anterior, se empleó una balanza analítica VIBRA HT (Max/d 220/0,0001 g) para determinar las cantidades de muestra en cada extracción como se muestra a continuación:

Tabla 16.

Peso de muestras para las tres extracciones por duplicado.

Nº	Volumen de etanol (mL)	Cantidad de muestra <i>Genipa americana L.</i> (g)
1	90	30,13
2	90	30,00
3	90	60,17
4	90	60,11
5	90	90,10
6	90	90,14

Nota. Esta tabla muestra la relación de cantidad de solvente (Etanol 99%) y muestra de *Genipa americana L.* utilizados en cada proceso.

Se propuso de esta forma un método convencional sólido-líquido simple y de fácil operación a partir del montaje Soxhlet como se muestra en la Figura 17 Las extracciones

se llevaron a cabo a partir de diferentes proporciones de jagua:solvente a una temperatura constante de 80°C para evitar la degradación del iridoide.

Cada uno de los montajes se manejó con un flujo de agua constante para evitar variaciones en el porcentaje de extracción del compuesto vegetal. El tiempo de extracción fue de 2,5 horas empleando 1 ciclo con una mínima de etanol sifonado. El equipo fue recubierto con papel plástico industrial oscuro en el dedal de vidrio donde se aloja la pulpa de jagua para evitar el contacto de la luz ya que es un agente que permite la aceleración de la reacción de la genipina con otras sustancias [1].

Figura 17.

Equipo de extracción Soxhlet para obtención de extracto rico en genipina.



Nota. La figura representa el montaje Soxhlet con muestra del fruto *Genipa americana L.*

3.5. Descripción del proceso de extracción

En un principio, se monta la parte inferior del equipo con apoyo de un soporte universal. A continuación, se coloca en la plancha de calentamiento un balón de 250 mL con el volumen correspondiente de etanol puro previamente medido con una probeta esterilizada de 250 mL, es importante que el equipo transmisor de calor sea de fácil remoción para efectuar el enfriamiento lo más rápido posible.

El equipo Soxhlet se construye con la implementación de la cámara de dedal de vidrio donde se coloca la muestra situando en su extremo superior un condensador de bolas; la unión de cada una de las partes del extractor se engrasó con vaselina líquida blanca para inhibir la entrada de aire, el escape del solvente evaporado y asegurar una condición de vacío para acelerar la condensación del etanol.

Posteriormente, se vierte en el matraz de 250 mL la cantidad propuesta de disolvente descrita en la *Tabla 16*, este volumen de etanol al 99% se formula de manera que, en el proceso de extracción no se recircule considerable cantidad del líquido para no provocar la degradación térmica de la aglicona de interés. El balón se ajusta a la parte inferior del Soxhlet y se da comienzo al calentamiento del solvente.

Figura 18.

Sifonado del etanol 99%



Nota. La figura representa el proceso de extracción sifonado con el disolvente Etanol 99%.

Durante el proceso es posible observar cómo se ejecuta un efecto sifón al condensar el etanol en el dedal de vidrio a medida que tiende a alcanzar el punto de ebullición como se muestra en la *Figura 18*. Una vez completo el montaje de extracción se regula el caudal de flujo del agua y para garantizar el proceso isotérmico se rodea con papel aluminio el bulbo de un termómetro de alcohol rojo situándose en contacto con la plancha de calentamiento realizando su lectura en intervalos de tiempo de 15 minutos.

Por consiguiente, la temperatura se regula alternando la posición de la plancha de calentamiento hasta alcanzar la temperatura de ebullición del alcohol; el solvente en estado gaseoso entra en contacto con el refrigerante condensándose lentamente y desciende en el compartimiento donde se encuentra el cartucho con la muestra de *Genipa americana L.*

El procedimiento toma aproximadamente de 3 a 4 horas en total, ya que solo se requiere un ciclo de extracción, posteriormente culminado el proceso se retira la plancha de calentamiento cuando existe una mínima cantidad de etanol en el matraz y deja de ebullicir.

Se desmontan las partes del Soxhlet en frío y se extrae el cartucho humedecido, en seguida se procede a envasar en frascos de 105 mL preliminarmente rotulados y esterilizados la solución resultante de la parte central. Los recipientes son protegidos de la luz con papel osmótico y son sellados al vacío evitando el contacto con el oxígeno atmosférico.

Finalmente, se realizó un prensado para cada papel filtro que contenía en su interior la pulpa de jagua para obtener mayor cantidad de extracto rico en genipina reforzando el contacto sólido- líquido entre las fases con un exprimidor de prensa metálico.

3.6. Caracterización fisicoquímica de los extractos alcohólicos

Para el análisis de los extractos se presentan los datos para cada una de las extracciones a partir del cálculo de propiedades tales como pH, sólidos solubles y densidad a temperatura ambiente como se muestra a continuación:

Tabla 17.

Resultados del análisis de los extractos resultantes del proceso de extracción.

Nº	Volumen de solvente (mL)	Cantidad de muestra <i>Genipa americana L.</i> (g)	pH	Brix %	ρ (g/mL)	Temperatura ambiente (°C)
1	90	30,13	6,24	22,69	0,83	15,1
2	90	30,00	6,23	22,99	0,84	16,8
3	90	60,17	6,23	23,71	0,86	15,3
4	90	60,11	6,06	23,75	0,88	15,0
5	90	90,16	5,99	23,14	0,89	14,9
6	90	90,14	5,86	23,14	0,89	15,5
\bar{x}			6,10	23,24	0,87	15,4

Nota. Esta tabla muestra la caracterización de la solución rica en genipina a partir de la medición de sus propiedades fisicoquímicas después de la extracción. Los datos obtenidos para Brix% son corregidos según la lectura de la temperatura ambiente para cada muestra

3.6.1. pH.

La determinación de pH se realizó con un PH700 Benchtop pH Meter según el método A.O.A.C 981-12 [69] en cumplimiento con la NTC440 a una temperatura ambiente según el registro del equipo.

En un comienzo, el electrodo es colocado en una solución buffer de KCl para la calibración del instrumento, después se tomaron los recipientes de 105 mL y se sumergió el electrodo en cada extracto registrando el pH.

Referente a esta propiedad se mantuvo constante ácido-neutro con valores oscilantes para su escala entre 5 y 7 para cada extracción y su duplicado, indicando baja actividad enzimática que impiden el desarrollo de microorganismos [75].

Según los datos obtenidos es posible apreciar un efecto significativo de la cuantía de masa de jagua empleada sobre el valor del pH para la solución de manera inversamente proporcional, de manera que, al considerar un pH neutro para el solvente [99], los ácidos

orgánicos presentes en la fruta acidifican el medio acuoso obteniendo valores ácidos según la escala.

Para las extracciones de 30 g y 60 g no se identifica un cambio considerable en estos valores, aunque al obtener una relación 1:1 de fruta: solvente el medio se acidifica en mayor proporción.

El análisis se realizó por duplicado y fue corroborado con un rollo de papel indicador de pH universal en el que se observaron colores que denotaban un color entre 5 y 7, sin embargo, esta medición posee un mayor margen de error impidiendo su fiabilidad debido a que las soluciones se encontraban coloreadas, aunque confirman los valores del primer instrumento.

3.6.2. Sólidos solubles

El estudio se desarrolló según la NTC440 [70] a partir de un método refractométrico a una temperatura constante para cada extracto por duplicado. Se empleó un Sper Scientific 300034 Lab Refractómetro Digital Brix 0 ~ 95 manejando agua desionizada como blanco y en consecuencia se tomaron alícuotas menores a 5 mL realizando la respectiva lectura para cada uno.

Cada valor proyectado por el equipo en comparación con los demás posee un bajo margen de error. Sin embargo, es conveniente efectuar un cambio a los datos obtenidos, puesto que la lectura correcta es establecida a 20 °C por la norma técnica colombiana como se abordó en el capítulo 1.

En relación con lo anterior, se procede a utilizar la Tabla de corrección según la metodología del capítulo anterior para modificar el porcentaje de sólidos disueltos cuando se trabaja a una condición diferente a los 20 °C obteniendo los resultados que se muestran en la *Tabla 17*.

Los valores presentados por el equipo denotan que existen una relación directamente proporcional con la cantidad de fruta empleada por extracción y los sólidos solubles presentes en cada extracto, lo que indica una alta concentración de azúcares como sacarosa a medida que aumenta la masa de *Genipa americana L.* en la extracción.

3.6.3. Densidad

Para cada uno de los extractos se determinó la relación masa: volumen por un método gravimétrico [72] empleando un picnómetro de 25 mL. Así se cuantifica la masa del instrumento en seco y se coloca la muestra en el cuerpo del mismo hasta que una parte de la solución rebose el capilar del tapón.

Esta propiedad extensiva expresa un comportamiento lineal y directamente proporcional a la masa de jagua empleada para cada extracción por lo que, su valor tiende a incrementar conforme aumenta la cantidad de fruta en la solución posiblemente por la presencia de sólidos y compuestos orgánicos insolubles.

3.7. Metodología de purificación e identificación de genipina

3.7.1. Espectrofotometría UV

En primer lugar, es necesario considerar que la genipina posee un espectro de máxima absorción entre los 240 nm [41][40], 241 nm [37] y/o 243 nm [36]. Por consiguiente, es perceptible en un rango ultravioleta que abarca longitudes de onda entre 100 y 400 nm. Las condiciones se fijan a una temperatura y presión ambiente de manera constante.

Para la lectura e identificación del metabolito de interés se realiza una solución stock o patrón del mismo según la metodología de Álvarez empleando diferentes diluciones de genipina pura en metanol por duplicado. [45] No obstante, la curva puede ajustarse a otro tipo de mezcla compuesta de agua ultra pura, etanol y cloroformo en la que el analito sea soluble realizando el experimento con varias réplicas, de manera que, el dato más preciso sea un promedio de otros datos de calibración [36].

Es posible usar espectrofotómetros o espectrocolorímetros que se ajusten a barridos con pasos preferiblemente de 2 nm entre un rango específico en el rango de luz ultravioleta. Allí se ilustra el comportamiento de la concentración de genipina determinando la absorbancia a diferentes longitudes de onda para obtener el espectro de absorción adecuado; una vez determinado el rango de luz se identifica el pico de aquella longitud de onda en la cual la absorbancia es máxima [100].

La pureza del compuesto vegetal se determina por alta intensidad de señal de genipina y baja señal de otros compuestos [37].

Por consiguiente, para cada extracto se utiliza la disolución que contiene el analito de identificación y es colocado como blanco para la lectura espectrofotométrica. A continuación, se retira reemplazándolo por la muestra del extracto previamente diluida si los valores de absorbancia son mayores a 2; la celda se tapa para evitar la evaporación del solvente y se analiza el comportamiento de la absorbancia vs longitud de onda.

3.7.2. Cromatografía HPLC

Previamente se recomienda desgasificar y purificar los solventes usados como fase móvil debido a la sensibilidad del compuesto de interés.

La purificación de genipina y separación de compuestos se realiza a presión constante en una columna T3 Atlantis® (150 mm × 6 mm, 5 µm) o en una columna Kinetex C18 de núcleo condensado (150 × 4,6 mm di, 2,6 µm) según el tipo de equipo empleado, en un cromatógrafo HPLC con un detector de matriz de diodos para la detección de la molécula [40].

Se propone el uso de una alícuota de 0,5 mL a 1 mL de cada muestra disuelta en 1 mL de etanol homogeneizado manualmente, sin embargo, es posible únicamente centrifugar a las condiciones a 12000 rpm durante 15 min sin necesidad de homogeneizar puesto que el iridoide se encuentra solubilizado en etanol al 99% [50].

Inmediatamente el sobrenadante se filtra utilizando una membrana de nailon (0,45 μm) y se inyecta en el cromatógrafo 10 μL previamente filtrados en una membrana de acetato de celulosa 0,22 μm [50].

Como fase móvil se utiliza agua (A) y acetonitrilo (B) de grado analítico ambos acidificados con ácido fórmico al 0,1%, con el siguiente gradiente: 0 min, 99% A; 9 min, 75% de A; 10 min, 99% A y 13 min, 99% A 35 ° C y 1,5 mL / min, condiciones a las cuales se han registrado los mejores rendimientos cromatográficos identificando la genipina en tiempos entre 6 y 8 minutos a una longitud de onda de 240 nm [40].

El anterior método es de alto rendimiento, no obstante, es posible trabajar con una relación metanol: agua pura de grado HPLC 45:55 v/v como fase móvil a 29 °C y 0,9 mL/min [4].

El límite de detección (LoD) y el límite de cuantificación (LoQ) se determinan mediante el cálculo de la relación señal / ruido. Se considera una relación señal / ruido de 3:1 para estimar la LoD y la relación señal-ruido de 10:1 correspondiente al LoQ [40].

4. RENDIMIENTO DE EXTRACCIÓN TOTAL CON PRESENCIA DE GENIPINA

Los extractos previamente analizados fueron almacenados en refrigeración a una temperatura de -4 °C en oscuridad y herméticamente sellados hasta ser sometidos a un proceso de purificación para concentrar la genipina, esto con el propósito de conocer la viabilidad de la extracción.

Al analizar el color de las muestras a contraluz se identificó una tonalidad violeta-rosada para los extractos que empleaban la menor cantidad de fruta, los recipientes con 60 gramos de fruta evidenciaban color azul y los resultantes con 90 gramos de jagua demostraban un fuerte color azul que tornaba a negro.

Lo anteriormente expuesto indica que, la cantidad de fruta empleada en la extracción utiliza al etanol como medio de reacción para ocasionar variaciones en el color una vez se ha completado la transferencia de masa al romper las paredes celulares de la fruta [44]. De esta manera, se desarrollan las distintas reacciones que dan origen a los compuestos químicos que colorean la solución. No obstante, es necesario resaltar que son varios los factores que posiblemente desencadenan este tipo de resultados.

La separación de la fase acuosa y la fase rica en genipina se realizó de distintas formas para la producción de polvillo azul. Inicialmente se llevó a cabo la formación de una nueva fase para precipitar el iridoide y, al mismo tiempo, se retiró el solvente de la extracción por evaporación.

4.1. Concentración de genipina por secado en mufla

Para concentrar la genipina se decidió utilizar la técnica propuesta por Pérez [82] para el tratamiento de las muestras como intento de aumentar la proporción de masa extraída y, por lo tanto, incrementar el rendimiento de extracción total.

El procedimiento consiste en separar la fase orgánica y la fase sólida a partir de la evaporación del solvente por medio de un secado, con el fin de concentrar el sólido de interés y eliminar cualquier traza del destilado de la siguiente manera:

Inicialmente se consigna el peso húmedo de 6 crisoles diferentes, cada uno de ellos es colocado en una mufla a una temperatura de 120 °C durante un periodo de 20 minutos y, a continuación, se registran los pesos de los crisoles secos y fríos hasta obtener una medida constante de esta propiedad para eliminar la humedad de los mismos en un desecador.

Una vez completado el paso anterior, en los 6 extractos resultantes se ocupan 1,5 mL de cada muestra alcohólica y se depositan en los recipientes desecados en el menor tiempo posible para que la porcelana no adsorba agua presente en el ambiente como se muestra en la *Figura 19*. Cada crisol se rotula de acuerdo con su respectivo número del extracto y es transportado nuevamente a la mufla a una temperatura de 70°C por un tiempo mínimo 20 minutos para eliminar el etanol y compuestos volátiles de las muestras; culminada la evaporación se repitió el procedimiento anterior tres veces hasta que el peso fuera invariable.

Figura 19.

Enfriamiento de los crisoles con muestra de genipina.



Nota. La figura representa el proceso de desecado para cada uno de los extractos etanólicos.

El rendimiento total de extracción se definió a partir de la siguiente ecuación:

$$\%Rendimiento\ del\ sólido\ seco = \frac{P_{ceh} - P_{ces}}{P_{ceh}} * 100 \quad Ec(11)$$

Donde P_{ceh} es el peso del crisol con el extracto húmedo y P_{ces} es el peso del crisol con el extracto seco. En complemento, se estima el rendimiento de extracción total a partir de la modificación de la fórmula usada por Náthia-Neves [16]:

$$\%Rendimiento\ total = \frac{Masa\ extraida}{Masa\ alimentación} * 100 \quad Ec(12)$$

$$\%Rendimiento\ total = \frac{Gramos\ de\ genipina\ prepurificada}{Gramos\ materia\ prima} * 100 \quad Ec(13)$$

Tabla 18.

Rendimiento del extracto total obtenido con presencia de genipina por secado.

N°	P_{ch} (g)	P_{cs} (g)	P_{ceh} (g)	P_{ces} (g)	$P_{ceh}-P_{ces}$ (g)	Materia prima (g)	Rendimiento del sólido seco (%)	Rendimien to total de extracción (%)
1	16,3503	16,3482	16,3593	16,3928	0,0335	30,13	0,2044	0,1112
2	19,2688	19,2666	19,2837	19,3059	0,0222	30,00	0,1149	0,0740
3	17,8221	17,8199	17,8513	17,8928	0,0415	60,17	0,2319	0,0690
4	20,2376	20,2346	20,2665	20,3198	0,0533	60,11	0,2623	0,0887
5	19,3078	19,3655	19,5127	19,9657	0,4530	90,10	2,2689	0,5028
6	16,7941	16,7908	16,8459	16,9162	0,0703	90,14	0,4156	0,0780

P_{ch} = Peso del crisol húmedo. P_{cs} = Peso del crisol seco.

Nota. Esta tabla muestra el resumen de resultados de rendimiento de extracción para el sólido seco y total obtenido para cada extracto por el método de secado en mufla.

Conforme a la técnica empleada en la *Tabla 18*, es posible deducir que la recuperación de genipina es significativamente menor a la esperada debido a que posiblemente reaccionó con grupos amina o proteínas de alto peso molecular que, al ser catalizadas

por la temperatura, aumentaron la saturación del color en la muestra y disminuyeron la concentración de la aglicona en la solución. Por lo tanto, esta práctica es de baja eficiencia al presentar bajos rendimientos y recuperar poca cantidad de extracto.

4.2. Concentración de genipina por filtración al vacío

Referente al método anterior se plantea pre purificar la genipina de otra manera empleando una segunda extracción líquido-líquido para la obtención de un pigmento azul separando la fase orgánica que contiene genipina reaccionada y la fase sólida con genipina sin reticular sin efecto de la temperatura y con ausencia de luz y oxígeno.

Para llevar a cabo esta separación se emplearon 90 mL de cada una de las seis extracciones y fueron colocadas en un embudo de decantación de 100 mL adicionando 10 mL de acetona como se muestra en la *Figura 20*. Este último compuesto es agregado a cada solución para provocar la precipitación del iridoide [38] y al finalizar la transferencia de masa, es posible apreciar que el sólido sedimentado es de color azul, entre tanto la fase orgánica es violeta.

Figura 20.

Separación de la fase acuosa y genipina libre.



Nota. La figura representa el proceso de separación de genipina de la muestra acuosa para los extractos de 30 g ,60 g y 90 g respectivamente.

A continuación, a cada instrumento se le colocó un corcho en la parte superior para evitar la evaporación del solvente y reacciones asociadas a la presencia de gases

atmosféricos, los embudos fueron sellados y almacenados en oscuridad durante 2 horas, tiempo suficiente para ocasionar la separación de fases.

Posteriormente, se coloca un Erlenmeyer con brazo lateral y se fija a una manguera de goma de pared gruesa, allí el tubo grueso es conectado a una trampa de vacío (250 mL) y luego a una bomba de vacío Rocker 400.

Figura 21.

Filtración al vacío de separación del solvente-analito.

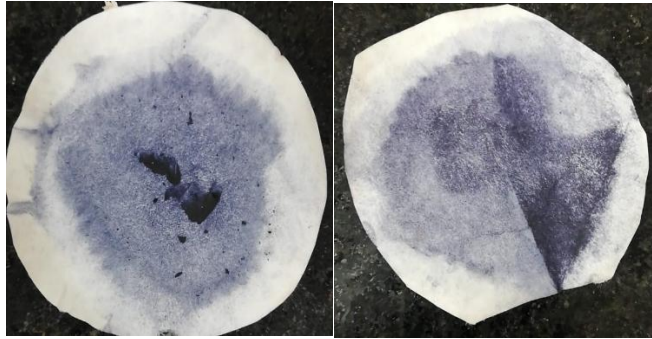


Nota. La figura representa el proceso de filtración al vacío para la separación del sólido de interés y mezcla de solventes.

En relación a la *Figura 21* cada Erlenmeyer es tapado con un corcho adaptado al embudo Buchner que contiene papel filtro doblado y plegado previamente pesado en seco de tal forma que, sean cubiertos los orificios del embudo para evitar el arrastre del pigmento por los bordes. En consecuencia, la llave del embudo de decantación se abre dejando caer lenta y conjuntamente el sólido y líquido resultantes, al unísono se enciende la bomba de vacío, la cual permitirá extraer el polvillo azul rico en genipina como se evidencia en la *Figura 22,23 y 24*.

Figura 22.

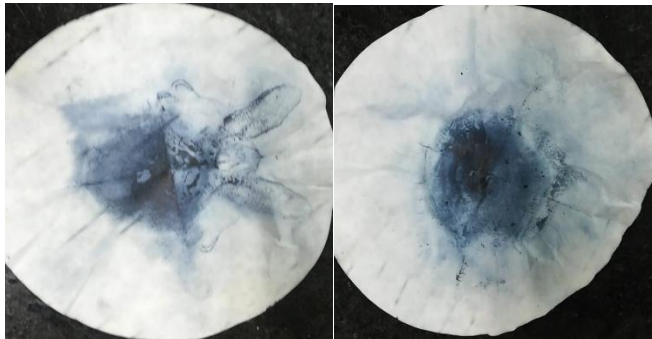
Pigmento rico en genipina para extractos de 30 g.



Nota. La figura representa el sólido resultante de la purificación de genipina en extractos de 30g.

Figura 23.

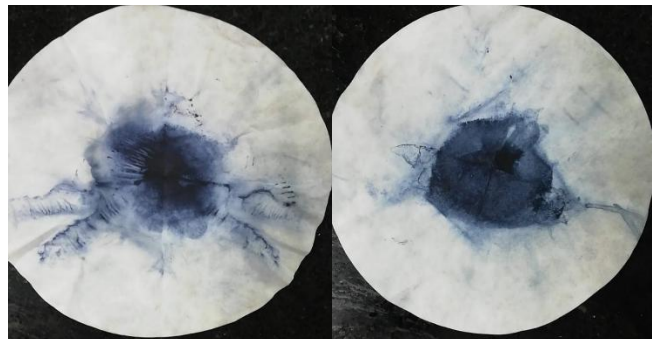
Pigmento rico en genipina para extractos de 60 g.



Nota. La figura representa el sólido resultante de la purificación de genipina en extractos de 60g.

Figura 24.

Pigmento rico en genipina para extractos de 90 g.



Nota. La figura representa el sólido resultante de la purificación de genipina en extractos de 90g.

Una vez terminada la filtración al vacío, se transfiere el papel filtro con el sólido a una mufla a 50°C durante 20 minutos y se registra la masa del sólido seco para la determinación del porcentaje de rendimiento de extracción del pigmento.

$$\% \text{Rendimiento del pigmento} = \frac{M_{pfp} - M_{pfs}}{M_{pfp}} * 100 \quad \text{Ec(14)}$$

Donde M_{pfp} es la masa en gramos del papel filtro con el pigmento azul y M_{pfs} es la masa del papel filtro en seco. En adición, se cuantificó el rendimiento de extracción total según la ecuación 13.

Tabla 19.

Rendimiento del extracto del pigmento y total obtenido con presencia de genipina por filtración al vacío.

N°	M_{pfs} (g)	M_{pfp} (g)	$M_{pfp} - M_{pfs}$ (g)	Materia prima (g)	Rendimiento del pigmento (%)	Rendimiento total de extracción (%)
1	1,7398	1,7491	0,0093	30,13	0,5317	0,0309
2	1,7374	1,7848	0,0474	30,00	2,6557	0,1580
3	1,8012	1,9001	0,0989	60,17	5,2049	0,1644
4	1,7893	1,9017	0,1124	60,11	5,9105	0,1870
5	1,8079	2,1003	0,2924	90,10	13,9218	0,3245
6	1,8121	2,3001	0,4880	90,14	21,2164	0,5414

Nota. Esta tabla muestra el resumen de resultados de rendimiento de extracción para el pigmento y total obtenido para cada extracto por el método de filtración al vacío.

A partir de la metodología propuesta de separación del iridoide del medio acuoso por filtración al vacío se obtuvieron diferentes porcentajes de recuperación debido a que cada extracción se realizó por duplicado. Cabe resaltar que, este pigmento posee otro tipo de subproductos de alto peso molecular como algunos iridoideos, proteínas, sustancias insolubles, entre otros que deben ser eliminados por técnicas más robustas como las expuestas en el capítulo anterior.

Conforme a la *Tabla 19*, el porcentaje de rendimiento del pigmento y total obtenido de la extracción son directamente proporcionales con la masa de jagua empleada. Por consiguiente, el mayor valor de rendimiento total es de 0,5414% para genipina pre purificada, el cual es mayor al dato obtenido por Lárez de 0,44% por maceración [38] y similar al obtenido por otros métodos como percolación en el que se reportó un rendimiento máximo de 0,61% [37] , teniendo en cuenta que estos últimos anuncian rendimientos de genipina en mayor grado de pureza analítica.

Es importante destacar que, el empleo de un método como la filtración al vacío es poco eficiente para la purificación de un metabolito secundario como la genipina, por lo que, los rendimientos obtenidos son menores en comparación a técnicas más robustas no convencionales como extracciones de alta presión (HHP) [101], asistidas por ultrasonido (UAE) [92], por líquido presurizado (PLE) [16] y asistidas por enzimas (EAE) [71] que han aislado este compuesto con rendimientos de 34 mg/g, 7,85 mg/g, 48,6 mg/g y 196 mg/g respectivamente.

5. PRODUCCIÓN DE COLORANTE AZUL

Conforme a los rendimientos presentados en el capítulo anterior se plantea la posibilidad de utilizar el jugo de Jagua rico en genipina para la producción del colorante azul en el que se evalúa su color inicial, intensidad, tono y estabilidad por medio de diseños de experimentos que empleen dos aminoácidos diferentes que tengan la capacidad de reaccionar con la aglicona para la formación de complejos azules. La interacción entre la molécula de genipina y compuestos de naturaleza proteica se expone a continuación:

5.1. Mecanismo de reacción de la genipina

La genipina alojada en los frutos de *Genipa Americana L.* es empleada como el reactivo principal polar y originalmente incoloro para la producción del colorante, este compuesto al entrar en contacto con péptidos, proteínas y grupos amino primario como la glicina y la L-Lisina monohidratada, es susceptible en la formación de color azul irreversible por medio de enlaces covalentes en fases acuosas por medio de una reacción de monosustitución [4].

Los anteriores aminoácidos fueron propuestos según la naturaleza de la reacción que aporta a la producción de pigmentos azules, puesto que, sustancias tales como el triptófano y la prolina reaccionan con genipina para la formación de colores verdes y negros respectivamente, a la vez que; valina, metionina y tirosina contribuyen un color verde azulado [102], esta gama de colores surgen debido a que la absorción de la genipina se encuentra en el espectro ultravioleta, de manera que, tiene la capacidad de absorber el espectro visible una vez entre en contacto con compuestos de naturaleza proteica [49].

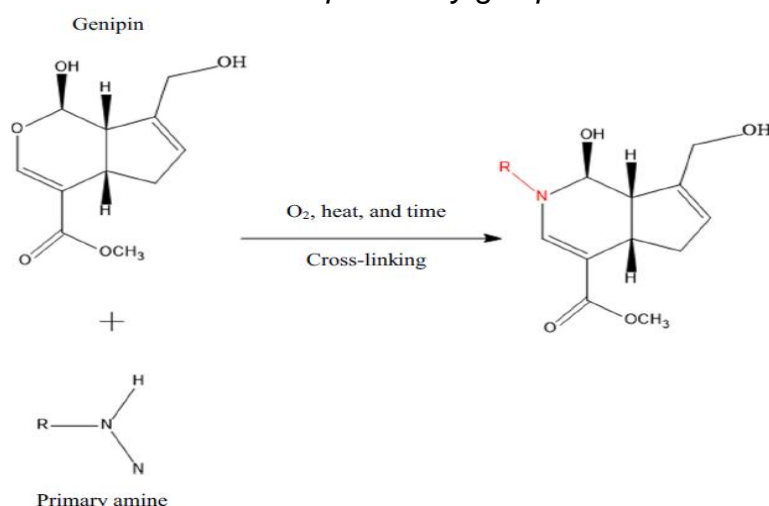
En ese orden de ideas, la creación del color azul es dependiente de la propagación de moléculas de oxígeno y del incremento de la temperatura en el medio líquido para inducir a la polimerización de la genipina, en lo que, ocurre una sustitución biomolecular de un grupo éster de esta molécula por una amina secundaria a medida que se polimeriza como se ilustra en la *Figura 25* [50].

El proceso de polimerización es de alta complejidad y a la fecha no se encuentra claro. En él intervienen radicales de oxígeno y deshidrogenaciones inducidas por distintos intermediarios de varias reacciones, que tienen un mayor grado de dificultad y al mismo tiempo, estas interacciones promueven la unión de diferentes monómeros solubles en compuestos polares que otorgan el color azul a las soluciones [103].

En consideración a lo anterior, el color azul está notablemente relacionado con factores como el pH, temperatura, fuente de aminoácidos y proporción de genipina a fuente de aminoácidos [102].

Figura 25.

Reacción entre una amina primaria y genipina

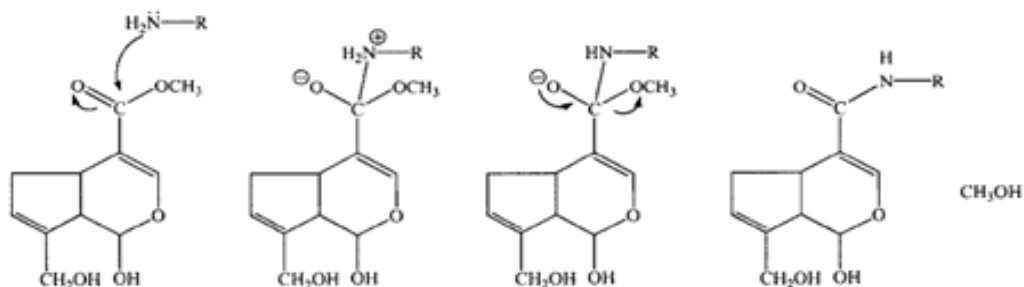


Nota. La figura representa el entrecruzamiento entre genipina y un grupo amino catalizada por presencia de O₂ y variables como tiempo y temperatura. [En Línea]. Disponible: 10.1016/j.ifset.2020.102333. [Acceso: Jun 01, 2021]

No obstante, algunos estudios determinaron que la genipina puede desencadenar 2 tipos de reacciones diferentes de acuerdo con las condiciones que favorecen la velocidad de reacción de cada una de ellas según el sitio activo y la polaridad de los enlaces en el que el aminoácido ataca la estructura química de la genipina como se muestra a continuación:

Figura 26.

1er tipo de reacción de entrecruzamiento entre una amina primaria y genipina.

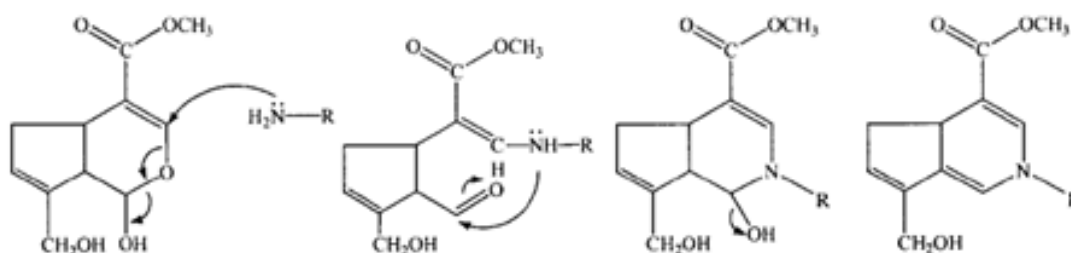


Nota. La figura representa la primera forma de reacción de entrecruzamiento entre genipina y un grupo amino. [En Línea]. Disponible: 10.1007/s11101-014-9383-z. [Acceso: Jun 02, 2021]

En la *Figura 26* se evidencia la interacción entre el enlace del ácido carboxílico de la genipina con una amida primaria en el que se realiza una sustitución molecular liberando metanol para la formación de un nuevo enlace con una amida secundaria [44].

Figura 27.

2do tipo de reacción de entrecruzamiento entre una amina primaria y genipina.



Nota. La figura representa la segunda forma de reacción de entrecruzamiento entre genipina y un grupo amino. [En Línea]. Disponible: 10.1007/s11101-014-9383-z. [Acceso: Jun 02, 2021]

En la *Figura 27* se expone el ataque nucleofílico de un radical de amina primaria en el carbono C-3 que conforma el grupo éster de la molécula de genipina formando un grupo

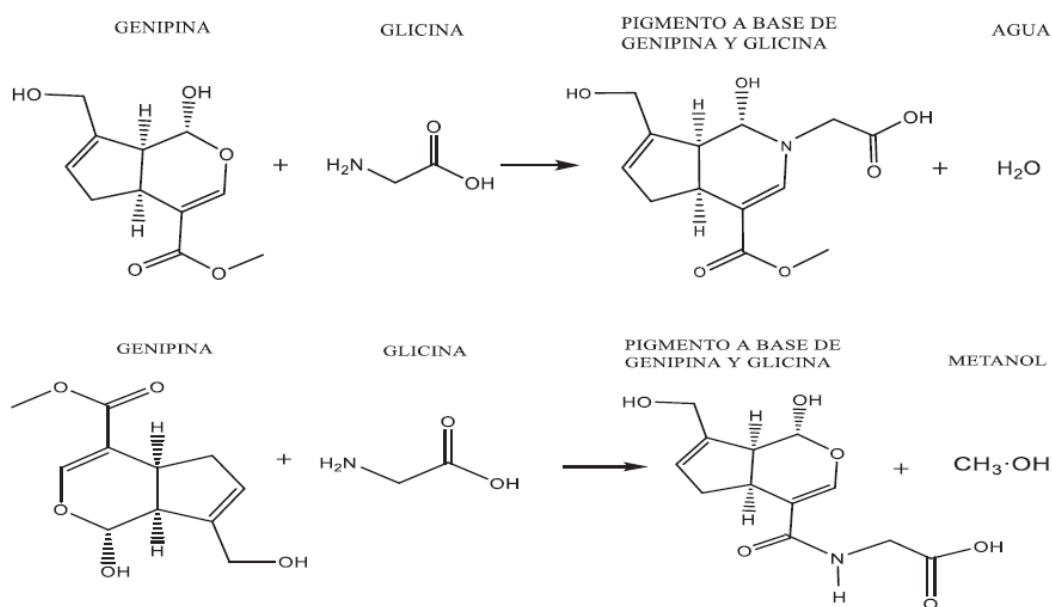
amina intermedio. Esta reacción es más lenta que la presentada en la *Figura 26* y rompe el anillo para la formación de un nuevo compuesto heterocíclico [44].

Por otra parte, para la formación de pigmentos azules a base de glicina y genipina se han realizado estudios que demuestran el mecanismo de reacción de ambos compuestos, además se ha ilustrado este comportamiento con metilamina y tirosina, no obstante, la lisina es un aminoácido poco empleado y su interacción con genipina no ha sido ampliamente examinada.

En la *Figura 28* pueden apreciarse dos tipos de reacciones para el compuesto vegetal y la glicocola, que pueden llegar a formarse a diferentes condiciones. En la primera reacción ilustrada se presentan enlaces tipo C-N obteniendo como subproducto agua, entre tanto en la segunda reacción surge metanol y aparecen enlaces tipo N-H [49].

Figura 28.

Tipos de reacción entre genipina y glicina.

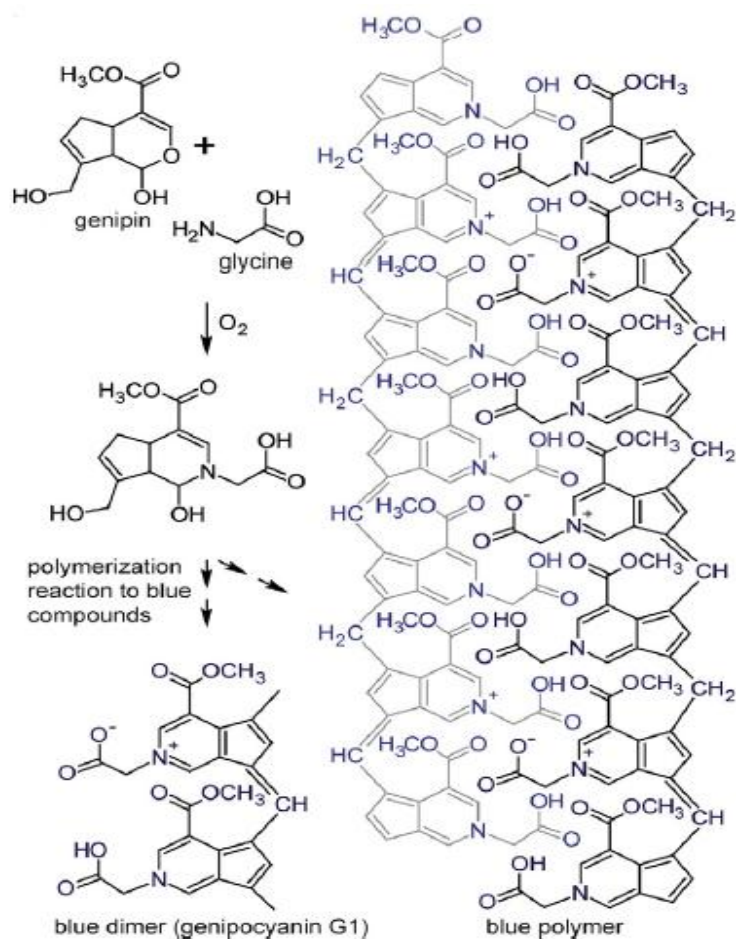


Nota. La figura representa las posibles estructuras de formación de la interacción entre genipina y glicina. [En Línea]. Disponible: <http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/18848>. [Acceso: Jun 05, 2021]

En la reacción posterior de la *Figura 29* expone el mecanismo de polimerización de la genipina con glicina catalizada por oxígeno: Inicialmente los compuestos forman un complejo químico que posteriormente da origen a un dímero azul conocido como genipocianina G1 que, en conjunto con más moléculas de esta naturaleza conforman el polímero de color azul.

Figura 29.

Formación del polímero azul por reacción entre genipina y glicina.



Nota. A figura representa el proceso de polimerización de la genipina y la glicina para la formación de compuestos que aportan el color azul. [En Línea]. Disponible <https://repositorio.uss.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12802/7665/V%C3%A1squez%20Sempertigue%20Wilder%20%26%C2%A0D%C3%ADaz%20Centuri%C3%B3n%20Edinson.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. [Acceso: Jun 09, 2021]

5.2. Preparación de las muestras

Los frutos son cortados y descortezados al momento de someterlos a temperatura ambiente aproximadamente 1 hora en el que reposaron en agua desionizada con unas pocas gotas de NaClO en la ciudad de Bogotá D.C. en los laboratorios de la Universidad de América. Al iniciar, a cada una de las bayas se le retiran las semillas y, posteriormente, con ayuda de una licuadora se propone extraer la mayor cantidad de jugo según una proporción 1:2 de fruta: agua desionizada con el fin de minimizar la cantidad de sólidos insolubles.

El líquido anteriormente obtenido es separado de la pulpa triturada con ayuda de un colador de malla metálica; este procedimiento de filtración se realiza dos veces para evitar que la mayor cantidad de sólidos insolubles se encuentren en la muestra a analizar.

En un principio se esterilizan los frascos de vidrio en un baño de agua a una temperatura mayor a 100 °C por 5 minutos y, una vez secos, se vierte el jugo de jagua en 16 frascos de los cuales la mitad son destinados para promover la reacción de la genipina con glicina y la cantidad restante con L-Lisina.

Al emplear recipientes de 105 mL se propone usar 100 mL de néctar de jagua por cada uno de ellos con concentraciones de los aminoácidos de 0,2 g y 2,0 g; cantidades propuestas según la patente de Ecoflora SA US 7927637 B2 [104] estableciendo como resultado relaciones aminoácido:jugo de 1:50 y 1:500 respectivamente, en la que el agua desionizada actúa como el medio de reacción y el portador de la genipina como reactivo principal.

A continuación, el ajuste del pH de la solución resultante se realiza con un PH700 Benchtop pH Meter por medio de la técnica usada por la A.O.A.C 981-12 [69] en cumplimiento con la NTC440 [70] a una temperatura de 15,3 °C. El pH se modifica con sustancias GRAS según la FDA [93] a condiciones ácidas a partir de la adición de ácido cítrico en polvo estableciendo un valor de 4 para la mitad de las muestras, mientras que, para tornar el néctar a un valor básico de 8 se emplean pocos miligramos de escamas de NaOH.

Cada uno de los frascos se homogeniza disolviendo $C_6H_8O_7$ o NaOH por agitación y se mide el pH en intervalos de 10 minutos durante 1 hora hasta estabilizar esta variable.

Después los recipientes se almacenan de manera que, la reacción de la genipina y el aminoácido primario sea catalizada al mínimo por variables como la temperatura, luz y oxígeno, por lo que, se plantea guardar las muestras a condiciones ambientales, privados de la luz externa con vinipel oscuro y sellados al vacío evitando el contacto con el aire.

En un principio, se estableció la concentración de la solución empleando el extracto de jagua como solvente y la masa de aminoácido como soluto obteniendo resultados iniciales aproximadamente de 0,2% p/p y 2% p/p.

Una vez culminada la elaboración de todas las muestras se procede a realizar las respectivas diluciones para disminuir la concentración de las soluciones madre, según la fórmula de Raymond Chang [105]:

$$M_i V_i = M_f V_f \quad \text{Ec(15)}$$

Donde M_i y M_f son las concentraciones molares de la disolución inicial y final respectivamente, V_i y V_f son los volúmenes respectivos de la disolución inicial y final en mL, en el que debe cumplirse que $M_i > M_f$ y $V_i < V_f$.

A partir del peso molecular de los solutos (aminoácidos) de los anexos A y B, y un promedio de la densidad del jugo de jagua determinado en el capítulo 2 se efectúa el cálculo para las concentraciones molares iniciales obteniendo los resultados de la *Tabla 20*.

Tabla 20.

Determinación de las concentraciones molares para las soluciones de Jagua con glicina y lisina.

Soluto.	Peso molecular. (g/mol)	Masa de soluto. (g)	N _{soluto} (moles)	Densidad de la solución. (g/mL)	Volumen de solución. (mL)	Concentraciones molares iniciales (mol/L)	Concentraciones molares finales (mol/L)
Glicina	75,07	0,2	0,0266	0,9509	105,1635	0,2529	0,0126
		2	0,0027			0,0257	0,0013
Lisina	182,65	0,2	0,0109			0,1036	0,0104
		2	0,0011			0,0105	0,0005

Nota. Esta tabla muestra la estimación de las concentraciones para la lectura de Longitud de Onda vs Absorbancia para las soluciones de glicina y lisina.

Las muestras con mayor concentración de glicina y/o lisina que contienen fueron diluidas según la ecuación de dilución anterior empleando 1 mL de la solución stock por 20 mL de agua desionizada, en tanto que, los recipientes con menor cantidad de aminoácidos requieren 10 mL de solvente por la misma cantidad de solución madre de manera que obedezca a la ley de Lambert-Beer.

Los experimentos fueron llevados a cabo en la ciudad Bogotá D.C. en los laboratorios de la Universidad de América en el mes de mayo a una temperatura y presión ambiente.

5.3. Diseño de experimentos

En primer lugar, cada arreglo factorial se desarrolla en un software estadístico conocido como Minitab® para el color inicial, intensidad, y tono del colorante de ambos aminoácidos.

Allí se emplean como factores cuantitativos constantes: La concentración aminoácido: jugo, pH y el tiempo, estas dos primeras variables independientes cuentan con 2 niveles de prueba, mientras la última variable controlable posee 3 niveles.

El arreglo factorial $2^2 \times 3$ se especifica en la *Tabla 21* y cuenta con un total de 12 tratamientos, no obstante, los experimentos planteados se llevaron a cabo por duplicado para contrastar y verificar el resultado de punto de partida estableciendo un total de 24 corridas, este tipo de arreglo factorial se postula debido a que otras variables como el efecto de la temperatura a diferentes valores de pH ya han sido evaluadas por otros autores y hasta la fecha no se ha evaluado la determinación del color azul por la fuente y proporción de aminoácidos.

En ese orden de ideas, se aplica un modelo con replicación de la siguiente manera:

$$y_{ijkl} = \mu + \tau_i + \beta_j + \gamma_k + (\tau\beta)_{ij} + (\tau\gamma)_{ik} + (\beta\gamma)_{jk} + (\tau\beta\gamma)_{ijk} + \varepsilon_{ijkl} \quad \text{Ec(16)}$$

$$i = 1, 2, \dots, a; j = 1, 2, \dots, b; k = 1, 2, \dots, c; l = 1, 2, \dots, r$$

Donde $r=2$ es el número de réplicas; $n=abcr$ es el número de observaciones; μ es la media global; τ_i es el efecto del i -ésimo nivel del factor A; β_j es el efecto del j -ésimo nivel del factor B; γ_k es el efecto del k -ésimo nivel del factor C; $(\tau\beta)_{ij}$, $(\tau\gamma)_{ik}$, $(\beta\gamma)_{jk}$ son los respectivos efectos de las interacciones dobles en los niveles ij , ik y jk ; $(\tau\beta\gamma)_{ijk}$ es el efecto de la interacción triple en la combinación ijk y ε_{ijkl} es el error aleatorio [106].

Por otra parte, las sumas de los cuadrados tienen las siguientes expresiones [107]:

$$SCT = \sum_{i,j,k,l} y_{ijkl}^2 - \frac{(y_{\dots})^2}{abcr} \quad \text{Ec(17)}$$

$$SCA = \left(\sum_i y_{i\dots}^2 \right) / (bcr) - \frac{(y_{\dots})^2}{abcr} \quad \text{Ec(18)}$$

$$SCB = \left(\sum_j y_{j\dots}^2 \right) / (acr) - \frac{(y_{\dots})^2}{abcr} \quad \text{Ec(19)}$$

$$SCC = \left(\sum_k y_{k\dots}^2 \right) / (abr) - \frac{(y_{\dots})^2}{abcr} \quad \text{Ec(20)}$$

$$SC(AB) = \left(\sum_{i,j} y_{ij\dots}^2 \right) / (cr) - \frac{(y_{\dots})^2}{abcr} - SCA - SCB \quad \text{Ec(21)}$$

$$SC(BC) = \left(\sum_{j,k} y_{j.k\dots}^2 \right) / (ar) - \frac{(y_{\dots})^2}{abcr} - SCB - SCC \quad \text{Ec(22)}$$

$$SC(AC) = \left(\sum_{i,k} y_{i.k\dots}^2 \right) / (br) - \frac{(y_{\dots})^2}{abcr} - SCA - SCC \quad \text{Ec(23)}$$

$$SC(ABC) = \left(\sum_{i,j,k} y_{ijk}^2 \right) / r - \frac{(y_{\dots})^2}{abc} - SCA - SCB - SCC - SC(AB) - SC(AC) - SC(BC) \quad \text{Ec(24)}$$

$$SCR = SCT - SCA - SCB - SCC - SC(AB) - SC(AC) - SC(BC) - SC(ABC) \quad \text{Ec(25)}$$

En las anteriores ecuaciones SCT hace referencia a la suma de cuadrados totales; mientras que SCA, SCB y SCC son la suma de cuadrados totales de los factores A, B y C respectivamente y $SC(AB), SC(BC), SC(AC)$ y $SC(ABC)$ indican la suma de cuadrados totales para los factores combinados.

Por otra parte, $\sum_{i,j,k,l} y_{ijkl}^2$ es la sumatoria de cada número de observaciones del tratamiento al cuadrado; $\sum_{ijk} y_{ijk}^2$ indica la sumatoria de observaciones de los tratamientos ijk al cuadrado y $\sum_i y_i^2, \sum_j y_j^2, \sum_k y_k^2$ corresponden a la sumatoria de observaciones del tratamiento i, j y k al cuadrado respectivamente.

En este modelo, el objetivo del análisis es realizar los contrastes de hipótesis nula que, junto al estadístico de contraste, se muestran a continuación [107]:

$$H_{0A} \equiv \tau_1 = \dots = \tau_a = 0 : F_A = \frac{CMA}{CMR} \rightarrow H_{0A} F_{(a-1), abc(r-1)} \quad \text{Ec(26)}$$

$$H_{0B} \equiv \beta_1 = \dots = \beta_b = 0 : F_B = \frac{CMB}{CMR} \rightarrow H_{0B} F_{(b-1), abc(r-1)} \quad \text{Ec(27)}$$

$$H_{0C} \equiv \gamma_1 = \dots = \gamma_c = 0 : F_C = \frac{CMC}{CMR} \rightarrow H_{0C} F_{(c-1), abc(r-1)} \quad \text{Ec(28)}$$

$$H_{0(AB)} \equiv (\tau\beta)_{ij} = 0, \forall_{i,j} : F_{(AB)} = \frac{CM(AB)}{CMR} \rightarrow H_{0(AB)} F_{(a-1)(b-1), abc(r-1)} \quad \text{Ec(29)}$$

$$H_{0(AC)} \equiv (\tau\gamma)_{ik} = 0, \forall_{i,k} : F_{(AC)} = \frac{CM(AC)}{CMR} \rightarrow H_{0(AC)} F_{(a-1)(c-1), abc(r-1)} \quad \text{Ec(30)}$$

$$H_{0(BC)} \equiv (\beta\gamma)_{jk} = 0, \forall_{j,k} : F_{(BC)} = \frac{CM(BC)}{CMR} \rightarrow H_{0(BC)} F_{(b-1)(c-1), abc(r-1)} \quad \text{Ec(31)}$$

$$H_{0(ABC)} \equiv (\alpha\beta\gamma)_{ijk} = 0, \forall_{i,j,k} : F_{(ABC)} = \frac{CM(ABC)}{CMR} \rightarrow H_{0(ABC)} F_{(a-1)(b-1)(c-1), abc(r-1)} \quad \text{Ec(32)}$$

En las ecuaciones 26-32 H_{0A}, H_{0B} y H_{0C} señalan la hipótesis nula de los factores A, B y C respectivamente; $\tau_1 = \tau_a, \beta_1 = \beta_b$ y $\gamma_1 = \gamma_c$ señalan el efecto del 1 o a, b y c-ésimo nivel del factor A, B y C respectivamente

Así mismo, F_A , F_B y F_C corresponden al factor de tratamientos en A, B y C respectivamente y sus combinaciones concernientes $F_{(AB)}$, $F_{(AC)}$, $F_{(BC)}$ y $F_{(ABC)}$. Por otra parte, CMR es la suma de cuadrados residuales y los demás términos que contienen CM señalan la suma de cuadrados de cada factor y sus combinaciones.

Tabla 21.

Modelo factorial de 3 factores con replicación.

<i>F.V.</i>	<i>S.C.</i>	<i>G.L.</i>	<i>C.M.</i>	F_{exp}
Factor A	SCA	$a-1$	CMA	CMA / CMR
Factor B	SCB	$b-1$	CMB	CMB / CMR
Factor C	SCC	$c-1$	CMC	CMC / CMR
A x B	SC(AB)	$(a-1)(b-1)$	CM(AB)	$CM(AB) / CMR$
A x C	SC(AC)	$(a-1)(c-1)$	CM(AC)	$CM(AC) / CMR$
B x C	SC(BC)	$(b-1)(c-1)$	CM(BC)	$CM(BC) / CMR$
A x B x C	SC(ABC)	$(a-1)(b-1)(c-1)$	CM(ABC)	$CM(ABC) / CMR$
Residual	SCR	$abc(r-1)$	CMR	
TOTAL	SCT	$abc r-1$	CMT	

Nota. Esta tabla muestra el análisis de varianza para diseño factorial de 3 factores con réplica. Tomado de <http://wpd.ugr.es/~bioestad/wp-content/uploads/Factorial-tres-factores.pdf>

Con respecto a la aprobación de las hipótesis nulas según las ecuaciones 26-32 que evalúan las correlaciones lineales e interacciones entre dos y tres factores, se compara el valor F de manera que $F_{exp} < F_{crítica}$, de lo contrario se rechazan las hipótesis planteadas.

Las mediciones espectrofotométricas para las soluciones de jagua con glicina y lisina se realizaron empleando un Espectrofotómetro Génesys 30 ® entre los 350 nm y 800 nm de longitud de onda con pasos de 1 nm por defecto. Inicialmente se proponen hacer mediciones cada 2 días por un periodo de 168 horas, puesto que, es transformado en un producto procesado semi perecedero, en el que se usa una condición ácida (4) y una condición básica (8) para las muestras según las relaciones previamente establecidas.

5.3.1. Color inicial para las soluciones de Jagua

El color azul en un tiempo 0 se expresó a partir de la longitud de onda máxima λ_{\max} correspondiente a la mayor absorbancia entre los 580 nm a 750 nm para cada una de las soluciones de Jagua [108]. El rango anterior fue sugerido según la *Tabla 22* debido a que, es necesario utilizar un límite de longitud de onda en el que se absorbe la luz de la solución coloreada para determinar el color de la región visible, es decir, aquel que las soluciones absorben son complementarios al color que transmiten [109].

Tabla 22.

Gama de colores que se absorben y reflejan en el espectro UV-Visible.

Longitud de onda aproximada	Color de luz absorbido	Color de luz reflejado
390-435	Violeta	Amarillo verdoso
435-490	Azul	Amarillo
490-580	Verde	Rojo
580-595	Amarillo	Azul
595-650	Naranja	Azul verdoso
650-780	Rojo	Verde azulado

Nota. Esta tabla muestra los colores que son absorbidos y reflejados en el espectro ultravioleta y de luz visible. [En Línea]. Disponible: https://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/08_ESPECTROFOTOMETRIA.pdf. [Acceso: Jun 11, 2021]

En consideración a la *Tabla 23*, las longitudes de onda anteriores demuestran que las soluciones tienden a absorber el color amarillo y el color naranja; sin embargo, en relación con la *Figura 7*, los colores complementarios de luz apreciados por el sentido de la vista humana son azul y azul verdoso.

Tabla 23.

Color azul inicial para las soluciones de Jagua con glicina.

Tiempo	pH	Relación glicina:jugo	
		1:50	1:500
0 h	4	599,0	597,0
		594,0	597,0
	8	589,0	594,0
		589,0	594,0
96 h	4	596,0	597,0
		596,0	597,0
	8	588,0	594,0
		592,0	594,0
168 h	4	595,0	596,0
		595,0	597,0
	8	592,0	592,0
		592,0	592,0

Nota. Esta tabla muestra los resultados de la máxima longitud de onda (nm) para las soluciones de jagua a base de glicina.

Los resultados reportados por Brauch [7] son más acordes a los valores obtenidos de pH básicos en lugar de ácidos entre 3,6 y 5,0. Al utilizar glicina como fuente de aminoácidos, Sang-Won Lee empleó de igual manera soluciones ácidas para la determinación colorimétrica de varios de ellos utilizando genipina derivada del árbol *Gardenia jasminoides*, en el que se informan picos máximos de 593 nm para la glicocola en diferentes tratamientos de pH, temperatura y tiempo [110] similares a los presentados en la *Tabla 23*.

A fin de analizar el grado de influencia de las variables para el color azul inicial de las soluciones con glicina se llevó a cabo el diseño de experimentos en el que se presentan los siguientes resultados:

Tabla 24.

ANOVA para color azul inicial de las soluciones de Jagua con glicina.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F _{exp}	Valor F _{crítica}	Valor p
Modelo	11	1,19E+5	1,02E+4	0,98	2,717	0,513
Lineal	4	3,85E+4	9630	0,92	3,259	0,482
Relación glicina:jugo	1	9441	9441	0,91	4,747	0,360
pH	1	8288	8288	0,80	4,747	0,390
Tiempo	2	2,08E+4	1,04E+4	1,00	3,885	0,397
Interacciones de 2 términos	5	5,18E+5	1,04E+4	1,00	3,106	0,461
Relación aminoácido:jugo * pH	1	1,09E+4	1,09E+4	1,05	4,747	0,326
Relación aminoácido:jugo*Tiempo	2	2,05E+4	1,02E+4	0,98	3,885	0,403
pH * Tiempo	2	2,05E+4	1,02E+4	0,98	3,885	0,403
Interacciones de 3 términos	2	2,15E+4	1,07E+4	1,03	3,885	0,386
Relación aminoácido:jugo*pH*Tiempo	2	2,15E+4	1,07E+4	1,03	3,885	0,386
Error	12	1,25E+5	1,04			
Total	23	2,37E+5				

GL= Grados de libertad; SC= Sumas de cuadrados; MC= Cuadrados medios.

Nota. Esta tabla muestra el resumen de resultados del arreglo factorial $2^2 \times 3$ para el pico máximo de longitud de onda (nm) de las soluciones de jagua con glicina con $\alpha=5\%$.

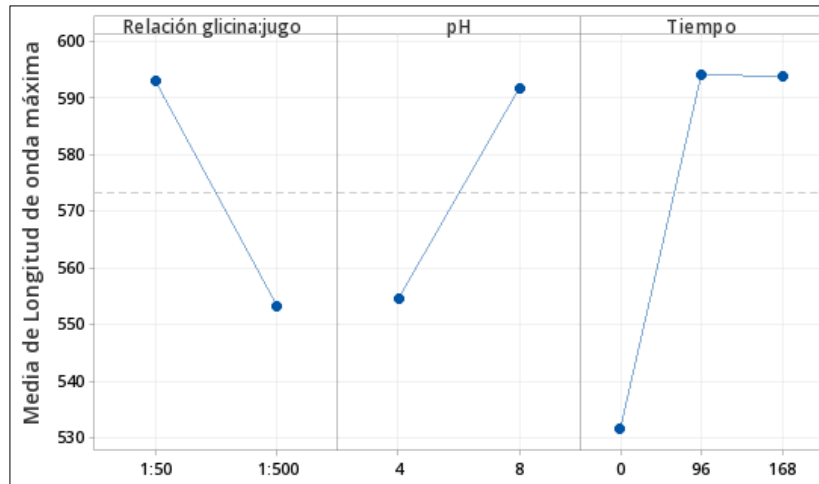
De acuerdo con la *Tabla 24*, es posible deducir que para todas las interacciones individuales y combinadas de los 3 factores se aceptan todas las hipótesis nulas, ya que se encuentran en la región de aceptación.

Al mismo tiempo, el valor p para cada una de las correlaciones es mayor al criterio de significancia por lo que no existe una variación significativa en el color inicial de cada una de las muestras al modificar el pH, concentración de glicina y ser analizado en distintos tiempos como se observa en la Figura 30 y 31.

Cabe resaltar que, la influencia de los 3 factores en conjunto según el modelo estadístico empleado no presenta diferencias considerables para las soluciones de jagua con glicina.

Figura 30.

Gráfica de efectos principales del color azul inicial de las soluciones de Jagua con glicina.



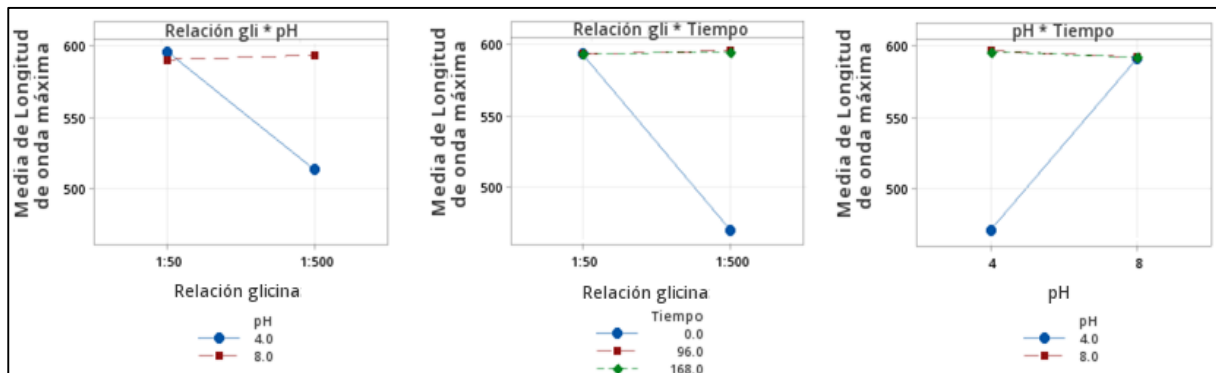
Nota. La figura representa el impacto individual de las variables para las soluciones de Jagua con glicina. Todos los términos que se muestran están en el modelo. Tiempo en horas.

La relación aminoácido:néctar juega un papel fundamental para establecer el color al inicio para cada tratamiento, por lo que, al aumentar la cantidad de glicina en cada una de las muestras es posible obtener un color más azul sin emitir otros colores cercanos del espectro visible como el verde o el violeta.

Por otra parte, el pH es una variable que afecta de manera inversamente proporcional el color azul en un principio favoreciéndolo en condiciones alcalinas, en otras palabras, el pH básico de las soluciones influye en la degradación y reacción de la genipina, mientras que, en valores menores a la neutralidad la molécula tiende a permanecer inmutable. Al analizar el cambio de color en el tiempo, este un factor determinante en el que tienden a desarrollarse otros colores como verdes azulados durante los primeros 4 días y tienden a permanecer invariables hasta los 7 días.

Figura 31.

Gráfica de interacción del color azul inicial de las soluciones de Jagua con glicina.



Nota. La figura representa el impacto de las variables combinadas para las soluciones de Jagua con glicina. Todos los términos que se muestran están en el modelo. Gli= Glicina. Tiempo en horas.

Al examinar las interacciones entre los 3 factores, es factible predecir que la relación entre la concentración de glicocola y pH muestra una tendencia similar a la representada en la *Figura 30* de glicina:jugo para un pH de 4, no obstante, para un pH álcali la media de longitud de onda máxima tiende a permanecer constante demostrando que, no existe un efecto significativo para la correlación de ambas variables.

En consideración a la correlación de glicina: jugo en el tiempo se observan diferencias en la media del pico máximo de longitud de onda para las 0 horas, mientras se normalizan y permanecen relativamente invariables en el transcurso del tiempo hasta los 7 días, por lo que, es posible deducir que el color tiende a persistir hasta las 168 horas o más.

Por último, al estimar la influencia del pH en el tiempo, el primero posee una predisposición afín al resultado de la *Figura 30* en el que se evalúa el efecto del mismo de forma individual desde el tiempo 0, sin embargo, al examinar los valores de λ_{\max} para las 96 y 168 horas, no existen diferencias perceptibles en el efecto del pH en distintos intervalos de mediciones.

En cuanto a las muestras con L-Lisina, se estimó de igual forma λ_{\max} :

Tabla 25.*Color azul inicial para las soluciones de Jagua con lisina.*

Tiempo	pH	Relación lisina:jugo	
		1:50	1:500
0 h	4	598,0	595,0
		598,0	597,0
	8	595,0	599,0
		591,0	598,0
96 h	4	595,0	597,0
		597,0	595,0
	8	595,0	601,0
		595,0	598,0
168 h	4	595,0	595,0
		597,0	596,0
	8	595,0	598,0
		595,0	598,0

Nota. Esta tabla muestra los resultados de la máxima longitud de onda (nm) para las soluciones de jagua a base de lisina.

Teniendo en cuenta la información presentada en la *Tabla 22*, los datos nanométricos previos evidencian la absorción de luz entre el color amarillo y naranja, para ser percibidos como azul y azul verdoso, de forma similar a las muestras a base de glicina.

Al emplear L-Lisina como promotor de la aparición de color azul en las soluciones, nuevamente Sang-Won Lee usó este aminoácido para determinaciones colorimétricas empleando ninhidrina y genipina reportando una longitud de onda máxima entre los 400 y 800 nm de 578 nm presentando el mayor valor de absorbancia, en comparación con otras aminoácidos [110].

Por otra parte, con el propósito de identificar el efecto de las variables para el color azul inicial de las soluciones con lisina se efectuó una vez más un diseño de experimentos en el que se presentan los siguientes resultados:

Tabla 26.

ANOVA para color azul inicial de las soluciones de Jagua con lisina.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F _{exp}	Valor F _{crítica}	Valor p
Modelo	11	7,21E+5	6,56E+4	3,66	2,717	0,017
Lineal	4	1,98E+5	4,94E+4	2,76	3,259	0,078
Relación lisina:jugo	1	1,84E+5	1,84E+5	10,26	4,747	0,008
pH	1	0,3750	0,3750	0,21	4,747	0,655
Tiempo	2	1,00E+4	0,5000	0,28	3,885	0,761
Interacciones de 2 términos	5	4,80E+5	9,61E+4	5,36	3,106	0,008
Relación lisina:jugo * pH	1	4,00E+5	4,00E+5	22,35	4,747	0,000
Relación lisina:jugo * Tiempo	2	1,00E+4	0,5000	0,28	3,885	0,761
pH * Tiempo	2	7,00E+4	3,5E+4	1,95	3,885	0,184
Interacciones de 3 términos	2	4,33E+4	2,17E+4	1,21	3,885	0,332
Relación lisina:jugo * pH * Tiempo	2	4,33E+4	2,17E+4	1,21	3,885	0,332
Error	12	2,15E+4	1,79E+4			
Total	23	9,36E+5				

GL= Grados de libertad; SC= Sumas de cuadrados; MC= Cuadrados medios.

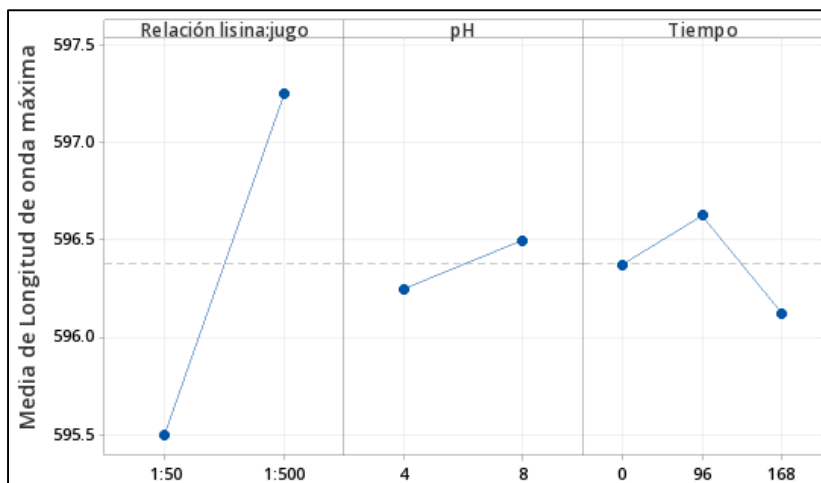
Nota. Esta tabla muestra el resumen de resultados del arreglo factorial $2^2 \times 3$ para el pico máximo de longitud de onda (nm) de las soluciones de jagua con lisina con $\alpha=5\%$.

De acuerdo con el análisis de varianza de la *Tabla 26* es posible observar una influencia significativa de la concentración de lisina para todas las soluciones, por esta razón se rechaza la hipótesis nula para el efecto de esta variable, entretanto el impacto del pH y el tiempo es mínimo, y en virtud de ello se aceptan sus hipótesis nulas.

Por lo que concierne a el valor p este reafirma que, para la influencia de las 3 variables por separado únicamente el valor de la relación de lisina:jugo es mayor al criterio de significancia 5%, lo que concurre en una alteración relevante en el color azul inicial pese a que no se aprecia un impacto sustancial por el pH y el tiempo como se observa en la *Figura 32*.

Figura 32.

Gráfica de efectos principales del color azul inicial de las soluciones de Jagua con lisina.



Nota. La figura representa el impacto individual de las variables para las soluciones de Jagua con lisina. Todos los términos que se muestran están en el modelo. Tiempo en horas.

Caso contrario a las soluciones de jagua con glicina, el comportamiento de la relación lisina y jugo influye de manera inversamente proporcional en el color inicial de las soluciones, es decir, al incrementar la cantidad de lisina en las muestras el color azul tiende a transformarse en colores verdes, lo que no favorece a la creación del colorante propuesto.

A diferencia de los anteriores resultados de la influencia individual del pH al analizar las muestras de jagua y glicina, la función de tendencia lineal de las soluciones con lisina posee una pendiente de menor valor, demostrando así una inclinación casi constante; de manera que, la gráfica de esta función para ambos niveles tiende a ser paralela al eje de las abscisas. En consecuencia, no se confiere una diferencia relevante del pH para las medias ajustadas de longitud de onda máxima confirmando la aprobación de su hipótesis nula.

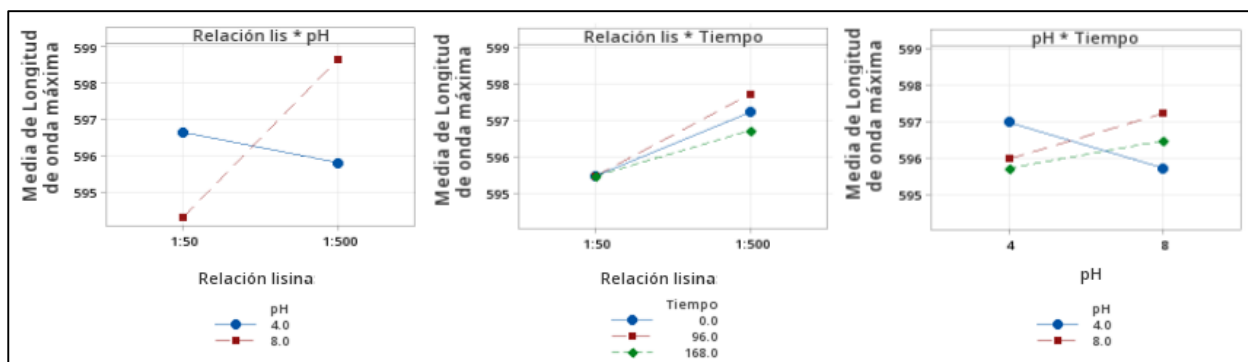
En lo que concierne con la longitud de onda absorbida por el equipo en distintos tiempos para las soluciones de jagua y lisina, es posible observar un mínimo impacto en el cambio de color en las primeras 96 horas favoreciendo la aparición de complejos que otorgan tonos verdes en las muestras. A partir de este tiempo el color azul propende a volver aparecer, posiblemente debido a la acción de otros compuestos como iridoides y/o diferentes tipos de reacciones por lo que el color tiende a ser variable en distintos intervalos.

Al analizar el impacto de las variables combinadas como se aprecia en la *Figura 33*, el valor $p=0$ para la interacción entre la concentración de lisina y el pH de las soluciones señala que la hipótesis nula es falsa, por lo que, si existe una diferencia perceptible en el efecto de estos 2 factores para los máximos valores de longitud de onda.

Por otra parte, para la siguiente figura en cuanto a la relación de lisina en cada recipiente de jugo de jagua y su influencia en el tiempo es prácticamente imperceptible y la mayoría de las muestras parten entre medias de picos de 595 y 596 nm para una proporción de 1:50, mientras que, para las muestras con concentraciones de 2% p/p el rango para λ_{max} entre las 0 y 168 horas son de 596 y 598 nm, aceptando de esta forma su hipótesis nula.

Figura 33.

Gráfica de interacción del color azul inicial de las soluciones de Jagua con lisina.



Nota. La figura representa el impacto de las variables combinadas para las soluciones de Jagua con lisina. Todos los términos que se muestran están en el modelo. Lis= Lisina. Tiempo en horas.

Finalmente, para evaluar la influencia entre el tiempo y el pH, este último tiende a obtener menores valores para la longitud de onda máxima en condiciones ácidas evidenciando colores más azules para los 0, 4 y 7 días, aunque en un valor alcalino los picos para la determinación del color azul inicial en un tiempo 0 son similares a los obtenidos en un tiempo de 168 horas para un pH=4 y aumentan proporcionalmente durante las primeras 96 horas hasta que la media ajustada de longitud de onda máxima se ubica entre los valores presentados para los 0 y 4 días, razón por la cual no se aprecia un efecto significativo y se acepta su hipótesis nula

Cabe destacar que, la influencia de los 3 factores en conjunto según el modelo estadístico empleado no presenta diferencias considerables para las soluciones de jagua con lisina.

5.3.2. ***Intensidad del color para las soluciones de Jagua***

La saturación, colorido o pureza del color es determinada a partir de la metodología empleada por Brauch y en la que se estima el área bajo la curva entre los 580 nm y 750 nm para cada uno de los tiempos empleados [7]. Con respecto a los valores de las áreas de los espectros resultantes, se ajustó para cada una de ellas una regresión empleando una línea de tendencia de un polinomio de grado 6, de forma que los coeficientes de determinación fueran lo más cercanos a 1, con el fin que, este porcentaje sea de poca variación indicando que el modelo sea lo más acorde a los datos.

Figura 34.

Intensidad del color azul.



Nota. La figura representa la saturación del color azul. El mínimo y máximo de intensidad del mismo se expone de izquierda a derecha respectivamente. [En Línea]. Disponible: <https://www.xn--diseowebmurcia1-1qb.es/modelos-de-color/>. [Acceso: Jun 09, 2021]

La pureza del color azul puede ser definida por la cantidad de gris que contiene como se aprecia en la *Figura 34*.

Las intensidades fueron evaluadas en un programa que incorpora el procesamiento de álgebra y cálculo numérico como *Wolfram Alpha*, así mismo, se empleó un motor de respuesta que calcula soluciones paso a paso a problemas matemáticos conocido como *Symbolab* para corroborar los primeros resultados. En caso de presentar un alto margen de error, se utiliza un dispositivo que realiza cálculos aritméticos y se realiza un promedio de los datos.

Cabe resaltar que, para la estimación de intensidad se emplearon diferentes diluciones y los resultados fueron denotados en [AU*nm]/g en lugar de [AU*nm]/µg como fue reportado por algunos autores [7], [108] para que los datos fueran los más acordes posibles y cumplan la ley de Lambert-Beer, lo que conlleva a diferencias significativas en la estimación de las áreas normalizadas.

Tabla 27.

Intensidad del color para las soluciones de Jagua con glicina.

Tiempo	pH	Relación glicina:jugo	
		1:50	1:500
0 h	4	4,38E+04	2,45E+06
		3,76E+05	2,45E+06
	8	7,81E+05	2,43E+05
		4,65E+05	1,88E+05
96 h	4	2,69E+06	6,12E+05
		2,69E+06	6,06E+05
	8	1,44E+06	2,26E+05
		1,50E+06	2,26E+05
168 h	4	1,37E+06	6,11E+05
		3,59E+06	6,01E+05
	8	2,00E+06	2,41E+05
		1,02E+06	1,82E+05

Nota. Esta tabla muestra los resultados del área azul debajo de la curva de absorción de los espectros de glicina [AU*nm].

En relación a la *Tabla 27* cada función fue integrada en los límites anteriores de longitud de onda propuestos, obteniendo un total de 24 datos.

Según los resultados de área bajo la curva, es posible apreciar que la magnitud de este valor es directamente proporcional respecto a la intensidad del color azul, es decir, al obtener menores áreas el color primario es poco saturado y se aproxima a un color neutro, mientras que para valores máximos de área el color tiende a ser más brillante.

En ese orden de ideas, para las 96 y 168 horas en una de las muestras con pH=4 y una concentración 0,2% p/p se obtiene el máximo valor de intensidad en comparación con todas las soluciones a base de glicina, y desde otra perspectiva, para las mismas condiciones enunciadas en un tiempo 0 se alcanza el menor valor de intensidad lo que indica un color azul menos saturado y vivo.

Las menores purezas de color para los 4 y 7 días corresponden a las mismas muestras con un pH básico y una relación 1:200 glicina:jugo, por lo que presentan un mínimo de intensidad exhibiendo un color con mayor presencia de matices grises.

Por otra parte, con el propósito de estudiar la influencia de las variables en la intensidad del color azul de las muestras, se llevó a cabo un análisis estadístico en el que se alcanzaron los siguientes resultados:

Tabla 28.

ANOVA para intensidad de las soluciones de Jagua con glicina.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F _{exp}	Valor F _{crítica}	Valor p
Modelo	11	2,08E+18	1,89E+17	7,46	2,717	0,001
Lineal	4	8,11E+17	2,03E+17	8,00	3,259	0,002
Relación glicina:jugo	1	3,62E+17	3,62E+17	14,29	4,747	0,003
pH	1	3,82E+17	3,82E+17	15,09	4,747	0,002
Tiempo	2	6,61E+16	3,30E+16	1,30	3,885	0,307
Interacciones de 2 términos	5	8,91E+17	1,78E+17	7,04	3,106	0,003
Relación glicina:jugo*pH	1	2,53E+16	2,54E+16	1,00	4,747	0,337
Relación glicina:jugo*Tiempo	2	8,61E+17	4,31E+17	16,99	3,885	0,000
pH*Tiempo	2	5,25E+10	2,63E+10	0,10	3,885	0,902
Interacciones de 3 términos	2	3,77E+17	1,89E+17	7,44	3,885	0,008
Relación glicina:jugo*pH*Tiempo	2	3,77E+17	1,89E+17	7,44	3,885	0,008
Error	12	3,04E+17	2,53E+16			
Total	23	2,38E+18				

GL= Grados de libertad; SC= Sumas de cuadrados; MC= Cuadrados medios.

Nota. Esta tabla muestra el resumen de resultados del arreglo factorial 2² x3 para el área bajo la curva de las soluciones de jagua con glicina con $\alpha=5\%$.

De acuerdo con los resultados previos de la *Tabla 28*, para la influencia del pH y la concentración de glicina como factores que afectan la intensidad del colorante, se considera rechazar sus hipótesis nulas debido a que existen diferencias significativas al manejar condiciones alcalinas y básicas para relaciones 1:50 y 1:500 como se observa en la *Figura 35*.

Con respecto al efecto del tiempo en cada una de las soluciones no se evidencia una interacción considerable en el cambio de intensidad de las muestras al comparar por lo que se aprueba la hipótesis nula.

Sin embargo, al analizar el efecto combinado por estas 3 variables, no existen diferencias ante la combinación del pH con la relación de aminoácido:jugo y tiempo, y por ende se admiten sus hipótesis nulas; aunque para la concentración de glicina a

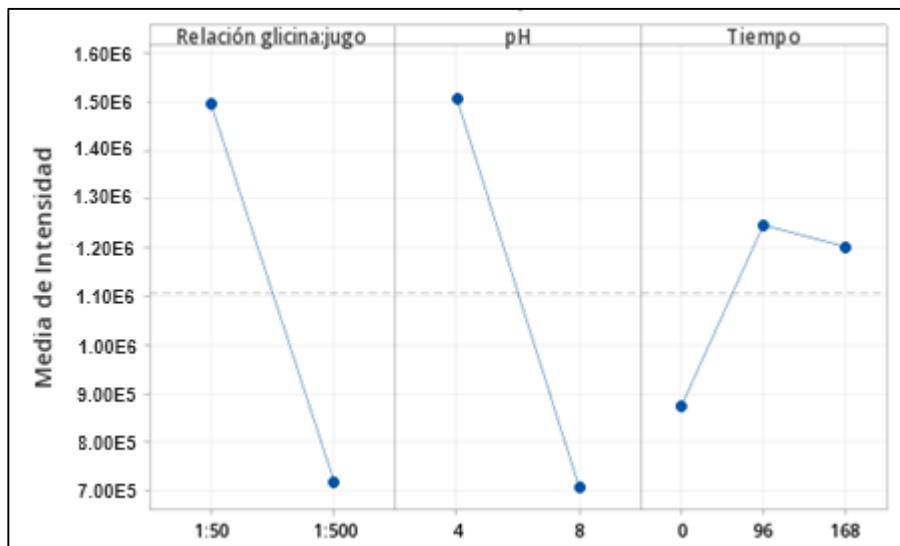
través del tiempo se valúa un efecto contrario en el que se evidencian cambios importantes para la saturación, razón por la que se aprueba su hipótesis alternativa.

Al considerar el valor p para cada una de las combinaciones de los factores de manera individual y mezclada, su magnitud es menor al criterio de significancia según la *Tabla 28*, a excepción de la interacción individual del tiempo y combinada para las variables con pH, debido a esto se confirma la tolerancia o nulidad de las hipótesis planteadas preliminarmente.

En relación a lo anterior, se obtuvieron las siguientes representaciones de medias ajustadas de intensidad en el que se muestran los efectos principales de la concentración de aminoácido, pH y tiempo respectivamente:

Figura 35.

Gráfica de efectos principales para intensidad de las soluciones de Jagua con glicina.



Nota. La figura representa el impacto individual de las variables para las soluciones de Jagua con glicina. Todos los términos que se muestran están en el modelo. Tiempo en horas.

En la gráfica anterior es posible evidenciar una tendencia similar con relación a la respuesta de media de intensidad para la cantidad de aminoácido en las muestras y pH demostrando un impacto verdaderamente significativo, es decir que, para valores bajos

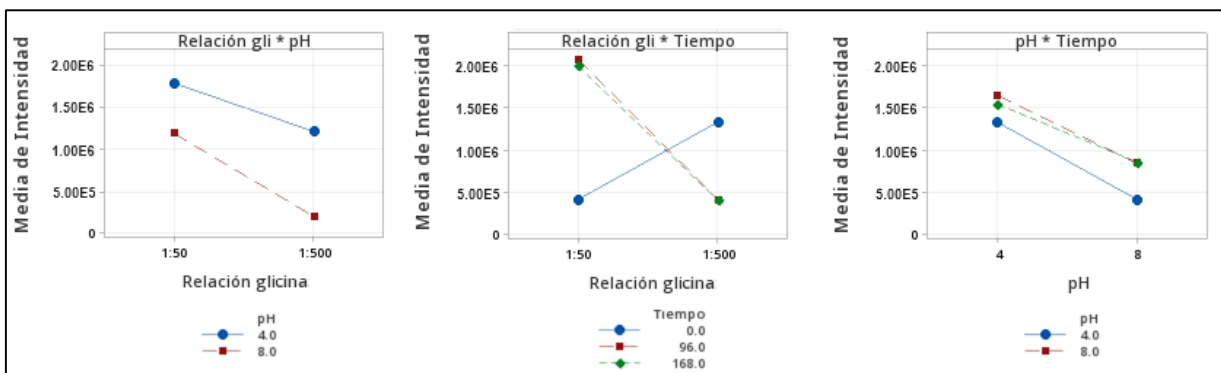
de pH y concentraciones pequeñas de glicina tienden a obtenerse colores azules cercanos a su máxima capacidad de pigmentación, aun cuando para soluciones de glicina ajustadas a condiciones álcali y relaciones 1:500 se alcanzan bajas saturaciones.

Acerca de la influencia del tiempo en la intensidad de las soluciones, en las primeras 96 horas se identifica un crecimiento lineal que refleja un comportamiento directamente proporcional con altas purzas de los néctares, aunque disminuyen progresivamente al 4to día hasta las 168 horas provocando desigualdad en la intensidad del color primario.

En la *Figura 36* se observan 2 líneas de comportamiento paralelo para la interacción de la relación glicina: jugo con pH en función de la media ajustada para el valor de intensidad, de forma similar a la *Figura 35*, por consiguiente, es posible analizar que para las soluciones con pH iguales a 4 se obtienen mayores saturaciones a comparación con muestras a condiciones básicas independientemente de la cantidad másica de aminoácido. No obstante, la concentración de glicina en las muestras afecta de manera inversamente proporcional la saturación del color.

Figura 36.

Gráfica de interacción de intensidad de las soluciones de Jagua con glicina.



Nota. La figura representa el impacto de las variables combinadas para las soluciones de Jagua con glicina. Todos los términos que se muestran están en el modelo. Gli= Glicina. Tiempo en horas.

Según el gráfico de intensidad (*Figura 36*) para la interacción entre relación de glicina y tiempo se aprecia un comportamiento similar a partir de las 96 horas para el valor de

intensidad de las soluciones para relaciones de 1:50 y 1:500 glicina:jugo, sin embargo, en un tiempo 0 para una concentración de 0,2% p/p la magnitud de la intensidad es baja desencadenando colores con mayor proporción de grises y para una relación 1:500 se obtienen áreas mayores con un color azul más vivo.

Por último, al estudiar la influencia combinada entre pH y el tiempo, las líneas resultantes muestran un comportamiento lineal similar. Allí, para un pH=8 se obtienen áreas menores que progresivamente tienden a aumentar y de forma similar ocurre para pH bajos; a diferencia que, la saturación es mucho mayor para estas muestras.

Para la determinación de las áreas bajo la curva para las muestras de jagua con l-lisina, se recurrió a la misma metodología utilizada con las soluciones de jagua a base de glicina, dentro de los límites de longitud de onda sugeridos, logrando un total de 24 datos.

Tabla 29.

Intensidad del color para las soluciones de Jagua con lisina.

Tiempo	pH	Relación lisina:jugo	
		1:50	1:500
0 h	4	2,61E+05	6,53E+04
		2,40E+05	9,37E+05
	8	4,17E+05	2,59E+05
		4,21E+05	8,01E+04
96 h	4	6,18E+04	1,09E+06
		1,02E+06	2,71E+05
	8	4,04E+05	3,07E+05
		3,54E+05	1,85E+05
168 h	4	9,51E+04	7,61E+04
		1,74E+04	6,96E+04
	8	2,84E+05	2,13E+04
		2,51E+05	7,91E+03

Nota. Esta tabla muestra los resultados del área azul debajo de la curva de absorción de los espectros de lisina [AU*nm].

De acuerdo con los resultados de área bajo la curva de la *Tabla 29*, es posible apreciar que la magnitud de este valor es directamente proporcional respecto a la intensidad del

color azul con lisina, es decir, al obtener menores áreas el color primario es poco saturado y se aproxima a un color neutro, mientras que para valores máximos de área el color tiende a ser más brillante.

En ese orden de ideas, una de las muestras con un pH ajustado 4 y una concentración de 1:500 demostró a las 96 horas la mayor intensidad en comparación con las demás muestras identificado en un color azul muy saturado, mientras que, transcurridos 7 días una solución con la misma relación aminoácido:jugo expresó la menor intensidad y se observaron matices grises en el color reflejado.

Con el propósito de identificar la influencia del pH, la concentración de lisina y el tiempo se ejecutó un diseño de experimentos en el que se exponen los siguientes resultados.

Tabla 30.

ANOVA para intensidad de las soluciones de Jagua con lisina.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F_{exp}	Valor $F_{crítica}$	Valor p
Modelo	11	9,61E+16	8,73E+10	0,87	2,717	0,588
Lineal	4	6,00E+16	1,50E+16	1,50	3,259	0,265
Relación lisina:jugo	1	8,67E+16	8,67E+16	0,09	4,747	0,774
pH	1	6,14E+10	6,14E+10	0,61	4,747	0,449
Tiempo	2	5,30E+16	2,65E+16	2,64	3,885	0,112
Interacciones de 2 términos	5	3,42E+16	6,85E+10	0,68	3,106	0,646
Relación lisina:jugo * pH	1	1,81E+16	1,81E+16	1,80	4,747	0,204
Relación lisina:jugo * Tiempo	2	1,92E+10	9,65E+16	0,10	3,885	0,909
pH*Tiempo	2	1,42E+16	7,10E+10	0,71	3,885	0,513
Interacciones de 3 términos	2	1,75E+10	8,79E+16	0,09	3,885	0,917
Relación lisina:jugo * pH *Tiempo	2	1,75E+10	8,79E+16	0,09	3,885	0,917
Error	12	1,20E+17	1,00E+16			
Total	23	2,16E+17				

GL= Grados de libertad; SC= Sumas de cuadrados; MC= Cuadrados medios.

Nota. Esta tabla muestra el resumen de resultados del arreglo factorial $2^2 \times 3$ para el área bajo la curva de las soluciones de jagua con lisina con $\alpha=5\%$.

En disposición a los resultados del análisis de varianza de la *Tabla 30* se realiza una comparación entre el valor F de manera que, $F_{exp} < F_{crítica}$, y según los valores dispuestos por el software estadístico se aprueban todas las hipótesis nulas, de forma

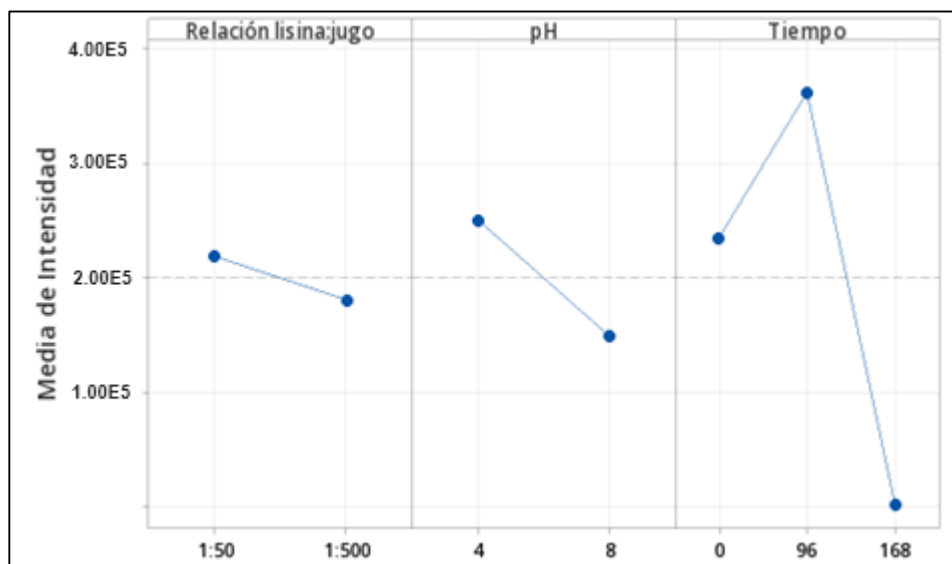
que ninguna variable o combinación de las mismas refleja un efecto significativo para los resultados de intensidad en las muestras de jagua con lisina.

Para corroborar el rechazo de todas las hipótesis alternativas se analizó el valor p según ANOVA, y al ser contrastado con el porcentaje de significancia se probó que para cada factor y sus respectivas combinaciones $p < \alpha$, razón por lo cual no existe ninguna alteración de las variables en valor de intensidad para los ejemplares de jagua con lisina.

A continuación, se evidencia el efecto de las 3 variables estudiadas en el arreglo factorial sobre las medias ajustadas para los datos del área bajo la curva:

Figura 37.

Gráfica de efectos principales para intensidad de las soluciones de Jagua con lisina.



Nota. La figura representa el impacto individual de las variables para las soluciones de Jagua con lisina. Todos los términos que se muestran están en el modelo. Tiempo en horas.

La *Figura 37* evidencia poca relevancia en el impacto de la concentración de lisina en las muestras sobre la saturación del color azul, señalando que para la disolución de 0,2

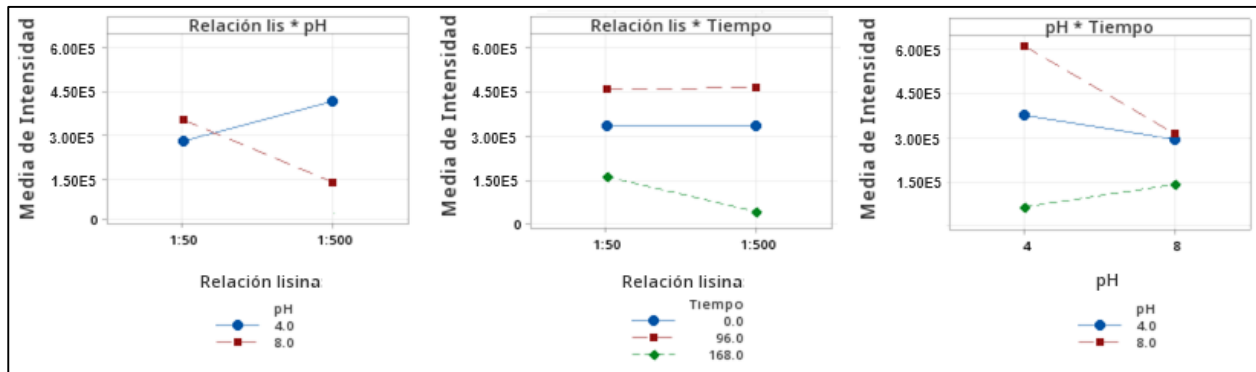
g y 2 g del aminoácido en las muestras la media ajustada se mantuvo por poco inalterable.

Para el pH en un valor ácido y otro alcalino la línea posee un comportamiento lineal de mayor pendiente que el caso anterior, no obstante, no es posible apreciar un efecto significativo en la variable ubicada en el eje de las coordenadas. En relación a este factor las muestras con un menor valor de pH muestran un color más saturado que las soluciones con un mayor grado de basicidad.

Para los 3 niveles de tiempo se aprecia un incremento de la pureza del color entre los 4 primeros días alcanzando las mayores intensidades de color, sin embargo, a partir de las 96 horas, el área bajo la curva posee un menor valor lo que refleja la adquisición de color gris o negro en las muestras.

Figura 38.

Gráfica de interacción de intensidad de las soluciones de Jagua con lisina.



Nota. La figura representa el impacto de las variables combinadas para las soluciones de Jagua con lisina. Todos los términos que se muestran están en el modelo. Lis= Lisina. Tiempo en horas.

En la *Figura 38*, se aprecian 2 líneas perpendiculares para relación de lisina:jugo y pH vs medias ajustadas de saturación, las muestras con un pH alcalino y ácido, y una relación 1:50 poseen valores cercanos de intensidad, mientras que, para un pH ácido en una concentración de 2% el color de las soluciones tiende a ser más vivo, caso contrario al mismo valor de concentración con un grado de alcalinidad mayor en el que se reflejan purezas menores.

Considerando el impacto de la concentración de aminoácido: jugo a través del tiempo, se aprecian para tiempos de 0 y 96 horas funciones lineales paralelas al eje horizontal, lo que responde a la aprobación de su hipótesis nula en el que no se identifica un efecto significativo de la concentración de lisina en el resultado de la integral, sin embargo, para un tiempo de 7 días se estiman bajas intensidades, posiblemente por la pérdida de color natural y diferentes reacciones que ocurren dentro de las soluciones.

5.3.3. Tono del color para las soluciones de Jagua

El tono, matiz o tonalidad es una propiedad determinada a partir de la siguiente ecuación:

$$\%Área = \frac{Área N_{(580-750) nm} [AU * nm]}{Área N_{(350-800) nm} [AU * nm]} \times 100 \quad Ec(33)$$

Donde $Área N_{(580-750) nm}$ corresponde al valor de la intensidad azul previamente determinado en un t y $Área N_{(350-800) nm}$ representa el área total bajo la curva de absorción de los espectros normalizados entre los 350 y 800 nm. [7]

Para ambos aminoácidos se calcularon un total de 96 integrales definidas de 48 polinomios de grado 6 para estimar el porcentaje de área que corresponde al color azul. Estas apreciaciones se llevaron a cabo en el programa de procesamiento de álgebra y cálculo numérico *Wolfram Alpha*, y el motor de respuesta *Symbolab* para corroborar los primeros resultados. Caso similar a la determinación de intensidades se utiliza un dispositivo que realiza cálculos aritméticos para confirmar los datos.

Los resultados para el matiz de las muestras a base de glicina se muestran a continuación:

Tabla 31.*Tono del color para las soluciones de Jagua con glicina.*

Tiempo	pH	Relación glicina:jugo	
		1:50	1:500
0 h	4	59,60	51,94
		52,27	51,94
	8	39,53	51,82
		40,40	51,85
96 h	4	52,56	53,40
		52,56	53,45
	8	51,86	51,50
		49,17	51,50
168 h	4	50,37	53,42
		52,53	53,47
	8	51,56	51,62
		52,72	50,55

Nota. Esta tabla muestra los resultados de la razón entre la intensidad y área total bajo la curva de absorción de los espectros de glicina [%].

En concordancia con la *Tabla 31*, el tono es directamente proporcional a la magnitud del porcentaje de área, es decir, a medida que la región azul posea una mayor proporción respecto al área normalizada entre los 350-800 nm, el matiz del color primario estará más centrado, en lugar de, cerca de uno de los extremos del espectro visible entre el violeta y el cian.

En la *Tabla 31* es posible apreciar que, para un tiempo inicial una de las muestras con un pH ajustado a 4 que emplea una proporción 1:50 glicina: jugo presenta la mayor tonalidad sin mezcla de blanco o negro, por lo cual es el color más cercano al azul.

Por otra parte, una solución alcalina con una relación 1:50 glicina:jugo en t=0 y t=96h muestra las menores tonalidades frente a otras muestras por lo que posiblemente el matiz que manifiesta sea el violeta o el verde.

Considerando el tono para las soluciones se evaluó la influencia de algunas variables como se muestra a continuación:

Tabla 32.

ANOVA para tono de las soluciones de Jagua con glicina.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F_{exp}	Valor $F_{critica}$	Valor p
Modelo	11	325,59	2,96E+04	10,31	2,717	0
Lineal	4	120,99	3,02E+04	10,54	3,259	0,001
Relación glicina:jugo	1	18,96	1,90E+04	6,60	4,747	0,025
pH	1	78,59	7,86E+04	27,38	4,747	0
Tiempo	2	23,44	1,17E+04	4,08	3,885	0,044
Interacciones de 2 términos	5	101,98	2,04E+04	7,11	3,106	0,003
Relación glicina:jugo * Ph	1	27,89	2,79E+04	9,72	4,747	0,009
Relación glicina:jugo * Tiempo	2	14,20	7,10E+03	2,47	3,885	0,126
pH*Tiempo	2	59,89	2,99E+04	10,43	3,885	0,002
Interacciones de 3 términos	2	102,62	5,13E+04	17,88	3,885	0
Relación glicina:jugo * pH*Tiempo	2	102,62	5,13E+04	17,88	3,885	0
Error	12	34,44	2870			
Total	23	360.03				

GL= Grados de libertad; SC= Sumas de cuadrados; MC= Cuadrados medios.

Nota. Esta tabla muestra el resumen de resultados del arreglo factorial $2^2 \times 3$ para el área bajo la curva de las soluciones de jagua con glicina con $\alpha=5\%$.

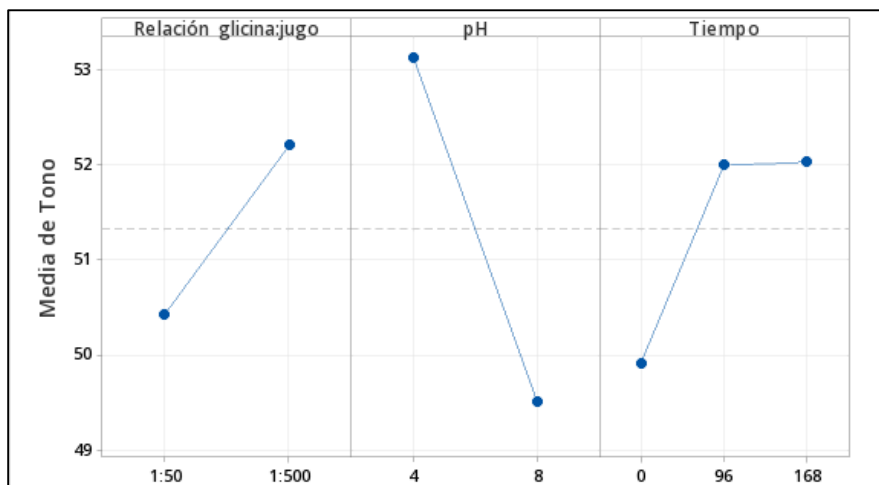
En relación a la *Tabla 32* es indispensable rechazar todas las hipótesis nulas relacionadas con el impacto individual del pH, tiempo, y relación glicina: jugo, puesto que, el valor p es menor al criterio de significancia empleado por lo que existen diferencias significativas en el tono del color al usar diferentes niveles para cada factor.

Para la interacción de 2 términos, se aceptan las hipótesis alternativas que abarquen al pH como variable, sin embargo, para la influencia de relación glicina:jugo*Tiempo para el tono del color no se aprecia efecto significativo.

En contraste con lo anterior, se graficó el comportamiento individual por variable sobre el tono como se muestra en la figura 39:

Figura 39.

Gráfica de efectos principales para tono de las soluciones de Jagua con glicina.



Nota. La figura representa el impacto individual de las variables para las soluciones de Jagua con glicina. Todos los términos que se muestran están en el modelo. Tiempo en horas.

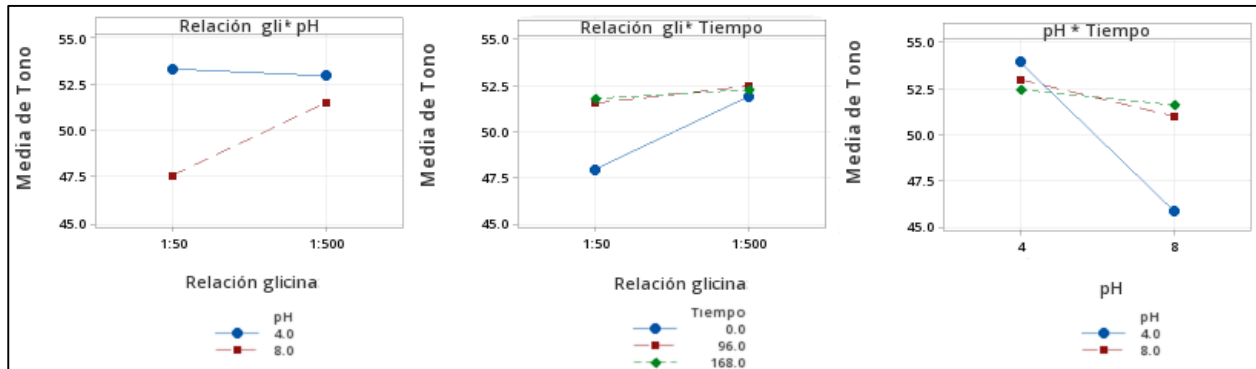
El gráfico anterior evidencia un impacto realmente significativo para la tonalidad del color en relación a la proporción de glicina en las muestras, puesto que, al incrementar la concentración de aminoácido aumenta el porcentaje de área y por lo tanto las muestras evidencian tonos más puros.

Por otro lado, el tono en la *Figura 39* evidencia un comportamiento inversamente proporcional con respecto al grado de alcalinidad de las soluciones, de decir, al acrecentar la magnitud del pH el área disminuye a valores menores al 50%.

En distintos intervalos de medición se aprecia un aumento del tono en las primeras 96 horas para todas las soluciones, sin embargo, esta variable tiende a volverse constante desde las 96 horas hasta el último día de análisis del color en un valor promedio del 52%.

Figura 40.

Gráfica de interacción de tono de las soluciones de Jagua con glicina.



Nota. La figura representa el impacto de las variables combinadas para las soluciones de Jagua con glicina. Todos los términos que se muestran están en el modelo. Gli= Glicina. Tiempo en horas.

En cuanto a la doble interacción entre la relación de glicina:jugo y pH es posible determinar que para un pH ácido se obtienen los mayores tonos para glicina de manera constante sin considerar la concentración del aminoácido, mientras que, para un mayor grado alcalinidad se observa un comportamiento proporcional en cuanto a la proporción de glicocola, es decir, al incrementar la cantidad másica del aminoácido en las soluciones, estas tienden a mostrar mejores tonos en comparación con muestras que poseen una relación glicina:jugo menor.

Al considerar el impacto a través del tiempo de la media ajustada de tono en combinación con la relación de glicina:jugo se evidencia un comportamiento paralelo constante al eje X para las estimaciones del mismo a partir del 4to día en adelante. Para las soluciones con concentraciones de 2% p/p los valores de tono son cercanos, señalando que no existen diferencias significativas en el efecto combinado de estos factores en el resultado del tono; aceptando así su hipótesis nula.

Por último, para un pH ácido los resultados de tono son cercanos en intervalos de 0, 96 y 168 horas, mientras que para soluciones alcalinas en un tiempo 0 los tonos de color son diferentes en comparación con las mediciones realizadas hasta ser constantes a partir del 4to día.

Cabe destacar que los valores reportados en la *Tabla 29* convergen con los resultados reportados por Brauch para la determinación del tono del color con áreas aproximadas del 51% en condiciones ácidas [7].

De igual manera, los valores de tono de color fueron contrastados empleando lisina como fuente de aminoácido de las muestras como se muestra a continuación:

Tabla 33.

Tono del color para las soluciones de Jagua con lisina.

Tiempo	pH	Relación lisina:jugo	
		1:50	1:500
0 h	4	53,36	46,33
		53,08	53,07
	8	52,95	52,76
		52,90	52,58
96 h	4	45,79	52,42
		53,85	51,98
	8	51,73	51,64
		51,75	50,73
168 h	4	50,84	46,64
		65,65	46,58
	8	38,87	39,30
		39,42	38,93

Nota. Esta tabla muestra los resultados de la razón entre la intensidad y área total bajo la curva de absorción de los espectros de lisina [%].

En conformidad con los resultados de la *Tabla 33* de las muestras ajustadas, inicialmente en un tiempo 0 para un pH=4 y una concentración de 0,2% del aminoácido se aprecia el mayor tono en comparación con las demás muestras, a las 4 días se presenta un descenso del tono, posiblemente por efecto de otras reacciones alternas o su factor de dilución, sin embargo, en contraste a las 168 horas siguen presentándose altos tonos del color primario, mientras que para las mismas condiciones en un pH básico se aprecian los menores tonos azules evidenciando tonos violetas y/o verdes.

A continuación, se realiza un último arreglo factorial para determinar la influencia de las variables previamente estudiadas sobre el tono del color en las soluciones de Jagua a base de lisina:

Tabla 34.

ANOVA para tono de las soluciones de Jagua con lisina.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F _{exp}	Valor F _{crítica}	Valor p
Modelo	11	700,51	63,68	4,61	2,717	0,007
Lineal	4	308,25	77,06	5,58	3,259	0,009
Relación lisina:jugo	1	30,89	30,89	2,24	4,747	0,160
pH	1	88,28	88,28	6,40	4,747	0,026
Tiempo	2	189,08	94,54	6,85	3,885	0,010
Interacciones de 2 términos	5	339,03	67,81	4,91	3,106	0,011
Relación lisina:jugo * pH	1	23,74	23,74	1,72	4,747	0,214
Relación lisina:jugo * Tiempo	2	45,93	22,97	1,66	3,885	0,230
pH*Tiempo	2	269,35	134,68	9,76	3,885	0,003
Interacciones de 3 términos	2	53,23	26,62	1,93	3,885	0,188
Relación lisina:jugo*pH*Tiempo	2	53,23	26,62	1,93	3,885	0,188
Error	12	165,65	13,80			
Total	23	866,16				

GL= Grados de libertad; SC= Sumas de cuadrados; MC= Cuadrados medios.

Nota. Esta tabla muestra el resumen de resultados del arreglo factorial 2² x3 para el área bajo la curva de las soluciones de jagua con lisina con $\alpha=5\%$.

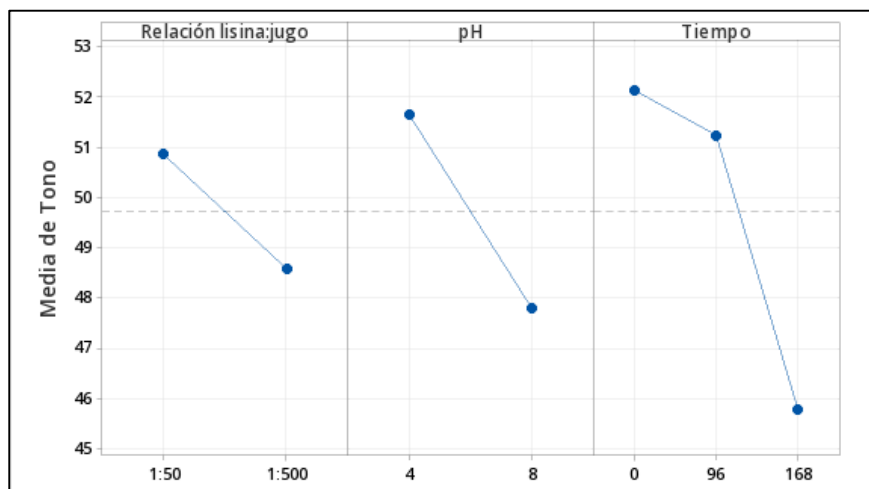
Para las hipótesis nulas planteadas en un principio, según la *Tabla 34* es indispensable rechazar únicamente 2 de ellas respecto al efecto por separado de cada variable sobre el tono del color concernientes al pH y el tiempo, mientras que, en relación al valor p de la relación lisina: jugo y el intervalo de significancia se acepta la hipótesis nula al no reconocer un efecto significativo sobre la variable respuesta.

En relación a las interacciones entre 2 términos solamente se acepta la hipótesis alternativa para el impacto combinado del pH y el tiempo, que en contraste con los efectos de la relación lisina: jugo no se determinaron efectos apreciables sobre el tono del color.

Cabe resaltar que, para el efecto combinado de los 3 factores se acepta la hipótesis nula debido a que el intervalo de significancia es menor al valor p.

Figura 41.

Gráfica de efectos principales para tono de las soluciones de Jagua con lisina.



Nota. La figura representa el impacto individual de las variables para las soluciones de Jagua con lisina. Todos los términos que se muestran están en el modelo. Tiempo en horas.

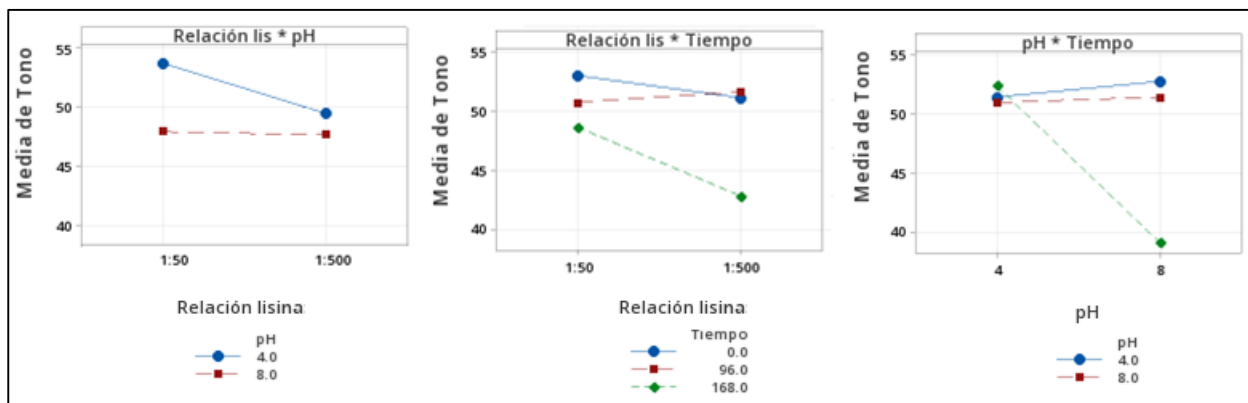
En relación a la *Figura 41*, el comportamiento de lisina: jugo es inversamente proporcional a los valores de medias ajustadas de tono, es decir, al incrementar la cantidad másica de aminoácido en las muestras, estas tienden a mostrar bajos tonos azules. Del mismo modo, en condiciones alcalinas los tonos azules disminuyen interpretándose como la aparición de nuevo color o tonalidad.

Conforme al tiempo de las mediciones se aprecia un comportamiento lineal descendente de los porcentajes de áreas para el matiz del color, en los primeros 4 días los tonos representan áreas mayores al 50%, y a partir de las 96 horas se evidencia una caída abrupta del tono del color, posiblemente por la degradación del mismo por la influencia de otro tipo de variables o vencimiento de la vida útil del colorante orgánico.

En contraste con lo anterior, se procede a obtener el gráfico de las interacciones de 2 términos:

Figura 42.

Gráfica de interacción de tono de las soluciones de Jagua con lisina.



Nota. La figura representa el impacto de las variables combinadas para las soluciones de Jagua con lisina. Todos los términos que se muestran están en el modelo. Lis= Lisina. Tiempo en horas.

Como se evidencia en la *Figura 42* para un grado de acidez de las muestras a medida que incrementa la proporción del aminoácido en las soluciones menor es el tono de las mismas, no obstante, en un pH básico se aprecia un comportamiento lineal paralelo al eje de las abscisas, lo que confirma la aceptación de su hipótesis nula.

En lo que respecta a la relación de lisina en el tiempo para una relación 1:50 lisina: néctar en un tiempo 0 se presentan los mayores tonos de color y progresivamente tienden a desaparecer. Por otro lado, para relación 1:500 el tono del color tiende a mantenerse en los primeros 4 días y progresivamente se desvanecerse, razón por la cual se acepta su hipótesis nula.

Por último, la influencia combinada del pH y el tiempo afirma que, en valores ácidos de pH, el tono tiende a permanecer constante, sin embargo, para soluciones alcalinas existe un cambio drástico de color hasta obtener áreas menores al 40% en el séptimo día.

5.3.4. Estabilidad del color para las soluciones de Jagua

Para analizar la permanencia del color en el tiempo la estabilidad fue calculada para todas las muestras de la siguiente forma:

Ec(34)

$$E = \frac{(Area N 580 - 750 nm)_t}{(Area N 580 - 750 nm)_0} \times 100$$

Donde $(Area N 580 - 750 nm)_t$ es la intensidad azul después de un periodo de tiempo t y $(Area N 580 - 750 nm)_0$ es la intensidad inicial del color azul antes del almacenamiento y tratamiento químico.

La estabilidad del color se determinó en un tiempo t de 7 días respecto a un tiempo inicial. En un principio, todas las muestras de glicina y lisina poseen una estabilidad inicial de 100% debido a que no se pueden apreciar cambios significativos en las primeras mediciones.

Para las muestras de glicina se determinó que las soluciones con mayor estabilidad son aquellas que emplearon un pH básico y una relación 1:500 con porcentajes de 99,5% y 96,91%.

Por otra parte, las muestras con el mismo pH y una concentración menor a la anterior de glicina poseen una estabilidad entre el 21,97% y 25,60%.

En contraste con lo anterior, para las muestras condicionadas con un valor de pH ácido de 4 y una relación 1:500 se estimaron estabilidades de 24,90% y 24,49%, mientras que, para relaciones menores la estabilidad se encontraba en un rango entre el 9,54% y 31,36%.

Los cálculos para lisina, por el contrario, determinaron que el color más inestable lo presentaban las soluciones ácidas con una relación 1:50 con porcentajes de 3,65% y 7,26%; seguidos por muestras con una relación 1:500 y pH=8 con un rango entre 8,23% y 9,87%.

No obstante, para las soluciones con un pH ácido y una concentración del 2% de lisina en las muestras se obtuvieron porcentajes entre 7,42% y 11,65% y cabe destacar que el color más estable durante los 7 días se presenta en condiciones alcalinas para una relación 1:50 con porcentajes entre el 59,67% y 68,11%.

Se analiza que los pigmentos sintetizados con glicina presentaron una mayor estabilidad frente a la lisina, ya que exhibe pérdidas menores en el proceso de descomposición ante cambio de temperatura, la cual siempre se mantuvo ambiente, esto permitió que no se generara una pérdida del porcentaje de peso considerable, siendo así el colorante más estable térmicamente.

6. CONCLUSIONES

Por medio de los análisis del fruto *Genipa americana L* se logró llevar a cabo su caracterización según los métodos brindados en las A.O.A.C y NTC. Principalmente los estudios denotaron a la Jagua como materia prima rica en genipina reticulada y sin polimerizar, de olor fuerte con un sabor 50% ácido y 50% amargo de trama 100% dura y 90% áspera. Por otra parte, el análisis fisicoquímico y bromatológico confirman que se trata de una fruta inmadura con pocos cambios químicos en su interior al presentar una tasa de 0,63% de ácidos orgánicos y $3,83 \pm 0,14$ % de azúcares y glúcidos, rica en agua, carbohidratos, minerales y proteínas que brindan un alto aporte calórico.

El proceso de extracción de genipina se desarrolló por duplicado para 3 porciones diferentes de materia prima en fase homogénea a una temperatura constante de 80°C empleando como solvente de alta pureza etanol al 99%. Las condiciones de operación empleadas no ofrecieron óptimos resultados respecto al rendimiento total de extracción posiblemente por altos tiempos de procesamiento, baja selectividad y degradación térmica de este compuesto. De igual forma, se estableció la metodología teórica de identificación y purificación de acuerdo a recopilación bibliográfica de varios autores que presentan mejores rendimientos con respecto a otro tipo de técnicas por su sensibilidad, idoneidad de separación y reconocimiento, fácil adaptación y determinaciones cuantitativas exactas.

Al implementar una técnica convencional para la extracción de genipina se presentaron máximos rendimientos de 0,5028% y 0,5414% para su prepurificación con un secado en mufla y una filtración al vacío respectivamente, es posible que los anteriores resultados se deban a las condiciones de operación empleadas para el desecado de la materia prima y la extracción que, degradaron el iridoide a altas temperaturas o promovieron la reacción de entrecruzamiento de la aglicona con compuestos de naturaleza proteica, lo cual disminuye su tasa de recuperación y define a estas técnicas de baja eficiencia para la separación de este metabolito secundario.

Por último, por medio del estudio ANOVA planteado se establece la glicina como el aminoácido adecuado para la producción del colorante azul debido a que, presenta intensidades altas, aumento del tono azul y mayor estabilidad a través del tiempo, alcanzando así una mayor coloración cercana a su máxima capacidad de pigmentación; aun cuando para algunas de las soluciones de glicina adecuadas a condiciones álcali y relaciones menores alcanzaran a obtener bajas saturaciones.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] G. Náthia-Neves and M. A. Angela Meireles, “Genipap: A New Perspective on Natural Colorants for the Food Industry,” vol. 8, no. 1, pp. 21–33, 2018, doi: 10.5923/j.fph.20180801.04.
- [2] G. Náthia-Neves, R. Vardanega, and M. A. A. Meireles, “Extraction of natural blue colorant from *Genipa americana* L. using green technologies: Techno-economic evaluation,” *Food Bioprod. Process.*, vol. 114, pp. 132–143, 2019, doi: 10.1016/j.fbp.2018.12.004.
- [3] T. Coultate and R. S. Blackburn, *Food colorants: their past, present and future*, vol. 134, no. 3. 2018.
- [4] A. S. Bellé, C. R. Hackenhaar, L. S. Spolidoro, E. Rodrigues, M. P. Klein, and P. F. Hertz, “Efficient enzyme-assisted extraction of genipin from genipap (*Genipa americana* L.) and its application as a crosslinker for chitosan gels,” *Food Chem.*, vol. 246, no. November 2017, pp. 266–274, 2018, doi: 10.1016/j.foodchem.2017.11.028.
- [5] E. G. De Mejia, Q. Zhang, K. Penta, A. Eroglu, and M. A. Lila, “The Colors of Health: Chemistry, Bioactivity, and Market Demand for Colorful Foods and Natural Food Sources of Colorants,” *Annu. Rev. Food Sci. Technol.*, vol. 11, no. March 2020, pp. 145–182, 2020, doi: 10.1146/annurev-food-032519-051729.
- [6] A. P. da SILVA, C. L. C. de LIMA, and R. L. VIEITES, “CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E FÍSICA DO JENIPAPO (*Genipa americana* L.) ARMAZENADO,” 1998. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-90161998000100006&lng=pt&tlng=pt.
- [7] J. E. Brauch, S. P. Zapata-Porras, M. Buchweitz, J. K. Aschoff, and R. Carle, “Jagua blue derived from *Genipa americana* L. fruit: A natural alternative to commonly used blue food colorants?,” *Food Res. Int.*, vol. 89, pp. 391–398, 2016, doi: 10.1016/j.foodres.2016.08.029.
- [8] UEIA, “Catálogo virtual de flora del Valle de Aburrá,” 2014. <https://catalogofloravalleaburra.eia.edu.co/species/92> (accessed Feb. 09, 2021).
- [9] Asohofrucol, “Huito,jagua,” 2021.

- http://www.asohofrucol.com.co/fruta_detalle.php?id=51 (accessed Feb. 09, 2021).
- [10] Tropicos, “Genipa Americana L.,” 2021. <https://www.tropicos.org/name/27900116> (accessed Feb. 09, 2021).
- [11] iNaturalist, “Jagua (Genipa americana),” 2021. <https://colombia.inaturalist.org/taxa/118965-Genipa-americana> (accessed Feb. 09, 2021).
- [12] E. V. Rivera, “ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DE LA SEMILLA DE TEJORUCO ‘Genipa americana L.’ DE GUERRERO.,” 2019.
- [13] X. W. J. Orellana, “Dinámica de crecimiento de siete especies forestales de la quinta y sexta fase de la colección Univesidad Técnica Estatal de Quevedo, Provincia de los Ríos, Ecuador,” 2016.
- [14] “Jagua (árbol),” *EcuRed*, 2021. [https://www.ecured.cu/Jagua_\(árbol\)](https://www.ecured.cu/Jagua_(árbol)).
- [15] “Genipa Americana L,” 1759. <https://es.scribd.com/document/350995036/botanica-genipa-americana-pdf>.
- [16] G. Náthia-Neves, A. G. Tarone, M. M. Tosi, M. R. Maróstica Júnior, and M. A. A. Meireles, “Extraction of bioactive compounds from genipap (Genipa americana L.) by pressurized ethanol: Iridoids, phenolic content and antioxidant activity,” *Food Res. Int.*, vol. 102, no. June, pp. 595–604, 2017, doi: 10.1016/j.foodres.2017.09.041.
- [17] M. González, “Fichas Tecnicas de Especies de uso Forestal y Agroforestal de la Amazonia Colombiana.pdf.” Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, Bogotá D.C., p. 70, 2015, [Online]. Available: https://sinchi.org.co/files/publicaciones/novedades_editoriales/pdf/Fichas_Tecnicas_de_Especies_de_uso_Forestal_y_Agroforestal_de_la_Amazonia_Colombiana-ilovepdf-compressed.pdf.
- [18] R. O. da S. Souza *et al.*, “Trypanocidal activity of polysaccharide extract from Genipa americana leaves,” *J. Ethnopharmacol.*, vol. 210, no. May 2017, pp. 311–317, 2018, doi: 10.1016/j.jep.2017.08.042.
- [19] A. Santos, “La Teoría del Color,” *Idat*, vol. 2, pp. 1–11, 2010, [Online]. Available: <https://adelossantos.files.wordpress.com/2010/10/teroria-del-color.pdf>.
- [20] J. Brezmes-Llecha, “Técnicas de control de calidad en fruta,” *Control Calid.*, pp.

- 13–34, 2000, [Online]. Available:
<https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/6877/CAPITOL2.pdf>.
- [21] K. Mathias-Rettig and K. Ah-Hen, “El color en los alimentos un criterio de calidad medible,” *Agro Sur*, vol. 42, no. 2, pp. 57–66, 2014, doi:
 10.4206/agrosur.2014.v42n2-07.
- [22] Á. Vera, “Sabor y aroma en alimentos,” *Univ. Autónoma Metrop.*, p. 46, 2016, [Online]. Available: <https://bit.ly/2UFY5I4>.
- [23] G. Puma Isuiza and C. Núñez Saavedra, “Determinación del perfil de textura sensorial de dos muestras experimentales de hot-dog de pollo (*Gallus gallus*) obtenidas por Ingeniería Kansei Tipo II,” 2018.
- [24] J. Torres *et al.*, “Análisis del Perfil de Textura en Frutas , Productos Cárnicos y Quesos,” 2015.
- [25] U. de Pamplona, “Determinación de Densidades en Alimentos,” pp. 1–16, 2021, [Online]. Available:
http://www.unipamplona.edu.co/unipamplona/portallG/home_191/recursos/generaI/09112019/guiaLabfisicoquimica_alimentos.pdf.
- [26] V. Hernández, M. del R. Ramírez, G. Martínez, and A. García, “Índice de Refracción de Líquidos,” vol. 2, pp. 9–16, 2013, [Online]. Available:
recursos_archivos_70589_70589_478_recursos-archivos-70589-70589-157-capitulo-2-0418.pdf.
- [27] J. Reardon and S. Troxler, “pH y los alimentos,” *Food Drug Prot. Div.*, no. 919, p. 19.26, 2008, [Online]. Available:
<https://www.ncagr.gov/fooddrug/espanol/PHYlosAlimentos.pdf.pdf>.
- [28] K. S. Kamel and M. L. Halperin, “Principles of Acid–Base Physiology,” in *Fluid, Electrolyte and Acid-Base Physiology*, Elsevier, 2017, pp. 3–32.
- [29] UNAM, “Fundamentos Y Tecnicas Analisis De Alimentos,” p. 58, 2008, [Online]. Available:
http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/FUNDAMENTOSYTECNICASDEANALISISDEALIMENTOS_12286.pdf.
- [30] O. Y. Berezin, Y. I. Tur’yan, I. Kuselman, and A. Shenhar, “Alternative methods for titratable acidity determination,” *Talanta*, vol. 42, no. 4, pp. 507–517, 1995, doi:

10.1016/0039-9140(95)01448-K.

- [31] K. I. A. Tamayo., “Aprovechamiento de los Excedentes del Banano en la hacienda Sta . Cruz para la elaboración de un producto tipo aderezo para repostería del Cantón El Guabo provincia del Oro,” 2013, [Online]. Available: <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/2213/1/CD00021-TESIS.pdf>.
- [32] C. B. Vergara, “Metodologías para el análisis bromatológico, físico y químico del cacao fermentado y seco, dentro del marco normativo internacional,” p. 132, 2016, [Online]. Available: http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/2064/1/Metodologias_analisis_bromatologico_cacao.pdf.
- [33] I. Tejada, J. Berruecos, and H. Merino, “Análisis Bromatológico De Alimentos Empleados Como Ingrediente En Nutrición Animal,” *Técnica Pecu.*, no. 1158, pp. 31–33, 1976, [Online]. Available: <https://bit.ly/2GwcYVk>.
- [34] O. Eduardo, G. Ochoa, R. B. Infante, and C. J. Rivera, “Hacia una definición de fibra alimentaria Alimentary fiber definition,” *An. Venez. Nutr.*, vol. 21, no. 1, pp. 25–30, 2008, [Online]. Available: <http://saber.ucv.ve/bitstream/10872/20731/1/Hacia una Definicion de fibra alimentaria.pdf>.
- [35] T. McKee and J. R. McKee, “CAPÍTULO 7: Carbohidratos,” in *Bioquímica. Las bases moleculares de la vida*, 5th ed., 2002, p. 37.
- [36] L. Y. R. Vargas, “Extracción sumipiloto de genipina a partir de frutos de Genipa Americana L.,” *Univ. ICESI*, p. 52, 2018, [Online]. Available: <http://www.elsevier.com/locate/scp>.
- [37] J. C. S. Culma, “Extracción de genipina en planta semipiloto para ser empleado como entrecruzante de hidrogeles.,” *Univ. ICESI*, p. 43, 2017.
- [38] C. L. Velásquez, A. Rivas, and I. S. Ocanto, “Obtención de Genipina a partir de frutos de caruto (Genipa americana L.) del llano venezolano,” *Av. en Quim.*, vol. 9, no. 2, pp. 75–86, 2014.
- [39] S. Tenesaca, “Elaboración de Cosméticos Decorativos a Partir de Frutos Verdes de Genipa americana L.,” *Fac. Ciencias*, vol. Bachelor, p. 103, 2012, [Online]. Available:

<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2022/1/56T00317.pdf%0Ahttp://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/2022>.

- [40] G. Náthia-Neves, G. C. Nogueira, R. Vardanega, and M. A. D. A. Meireles, "Identification and quantification of genipin and geniposide from *Genipa americana* L. by HPLC-DAD using a fused-core column," *Food Sci. Technol.*, vol. 38, pp. 116–122, 2018, doi: 10.1590/1678-457x.17317.
- [41] I. A. Neri-Numa *et al.*, "Genipap (*Genipa americana* L.) fruit extract as a source of antioxidant and antiproliferative iridoids," *Food Res. Int.*, vol. 134, no. September 2019, 2020, doi: 10.1016/j.foodres.2020.109252.
- [42] L. C. Alves Camêlo, G. de Souza Dias Santos, R. Lucena de Souza, C. M. Faria Soares, J. F. Brandão Pereira, and Á. S. Lima, "Protic ionic liquids as constituent of aqueous two-phase system based on acetonitrile: Synthesis, phase diagrams and genipin pre-purification," *Fluid Phase Equilib.*, vol. 507, 2020, doi: 10.1016/j.fluid.2019.112425.
- [43] J. M. Prado, P. C. Veggi, G. Náthia-Neves, and M. A. A. Meireles, "Extraction Methods for Obtaining Natural Blue Colorants," *Curr. Anal. Chem.*, vol. 16, no. 5, pp. 504–532, 2018, doi: 10.2174/1573411014666181115125740.
- [44] A. M. Ramos-de-la-Peña, C. M. G. C. Renard, J. Montañez, M. de la Luz Reyes-Vega, and J. C. Contreras-Esquivel, "A review through recovery, purification and identification of genipin," *Phytochem. Rev.*, vol. 15, no. 1, pp. 37–49, 2016, doi: 10.1007/s11101-014-9383-z.
- [45] G. A. Ochoa, "Eficiente método de extracción de genipina a partir del fruto de la *genipa americana*," *Universida del Val.*, p. 53, 2017.
- [46] I. A. Neri-Numa *et al.*, "In vitro bioactivity approach of unripe genipap (*Genipa americana* L., Rubiaceae) fruit extract and its solid lipid microparticle," *Food Res. Int.*, vol. 127, no. April 2019, p. 108720, 2020, doi: 10.1016/j.foodres.2019.108720.
- [47] A. M. Ramos-De-La-Peña, C. M. G. C. Renard, L. Wicker, J. C. Montañez, L. A. García-Cerda, and J. C. Contreras-Esquivel, "Environmental friendly cold-mechanical/sonic enzymatic assisted extraction of genipin from genipap (*Genipa americana*)," *Ultrason. Sonochem.*, vol. 21, no. 1, pp. 43–49, 2014, doi:

- 10.1016/j.ultsonch.2013.06.008.
- [48] S. y WU and G. HORN, "US 201161556441," p. 10, 2011.
- [49] A. Rodríguez and J. Pinanjota, "Obtención de pigmentos a base de huito y evaluación de su eficiencia como sensibilizadores en celdas solares - proyecto previo a la obtención del título de ingeniero ambiental," no. October, 2017.
- [50] M. Martins Strieder, M. I. L. Neves, E. K. Silva, and M. A. A. Meireles, "Low-frequency and high-power ultrasound-assisted production of natural blue colorant from the milk and unripe *Genipa americana* L.," *Ultrason. Sonochem.*, vol. 66, no. March, 2020, doi: 10.1016/j.ultsonch.2020.105068.
- [51] J. C. Autino, G. Romanelli, and D. M. Ruiz, *Introducción a la Química Orgánica*. 2013.
- [52] M. A. Razak, P. S. Begum, B. Viswanath, and S. Rajagopal, "Multifarious Beneficial Effect of Nonessential Amino Acid, Glycine: A Review," *Oxid. Med. Cell. Longev.*, vol. 2017, 2017, doi: 10.1155/2017/1716701.
- [53] NIH, "LD-Lysine _ C6H14N2O2 - PubChem."
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/866#section=MeSH-Entry-Terms>.
- [54] T. Brautaset and T. E. Ellingsen, *Lysine: Industrial Uses and Production*, Second Edi., vol. 3. Elsevier B.V., 2011.
- [55] A. Caldas, "Optimización,escalamiento y diseño de una planta piloto de extracción sólido líquido," *Univ. Cuenca*, pp. 1–48, [Online]. Available: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2468/1/tq1111.pdf>.
- [56] M. Z. V. Oseida, "Métodos de extracción de aceite esencial de la semilla de moringa (*Moringa oleífera*)," *Univ. Rafael Landívar*, 2018, [Online]. Available: <http://recursosbiblio.url.edu.gt/tesisjrcd/2018/06/17/Valencia-Maylin.pdf>.
- [57] V. J. Perez, "Isolation & Characterization of Organic Molecules from Mississippian-age Crinoids by," p. 49, 2013, [Online]. Available: <https://kb.osu.edu/bitstream/handle/1811/86165/1/VictorPerezSeniorThesis.pdf>.
- [58] G. A. A. Rodríguez, "Análisis técnico – económico de la extracción y bioprospección de aceite de buriti – *mauritia flexuosa*, en el departamento del Guaviare," p. 176, 2019, [Online]. Available: <https://repository.ean.edu.co/bitstream/handle/10882/9769/AcostaGustavo2019.p>

df?sequence=1&isAllowed=y.

- [59] NIH, "Etanol _ CH₃CH₂OH - PubChem."
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/702>.
- [60] M. de Salud, *Normograma del Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos - INVIMA [DECRETO 2106 de 1983 Presidencia de la República]*. 1983, p. 7.
- [61] A. G. Newsome, B. T. Murphy, and R. Van Breemen, "Isolation and characterization of natural blue pigments from underexplored sources," *ACS Symp. Ser.*, vol. 1138, no. July, pp. 105–125, 2013, doi: 10.1021/bk-2013-1138.ch008.
- [62] O. M. de la Salud, "Aditivos alimentarios," 2018. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-additives#:~:text=Los aditivos alimentarios son sustancias,su textura o su aspecto.&text=En los alimentos comercializados internacionalmente,considerados inocuos por el JECFA>.
- [63] C. Stan, *Norma General para los aditivos alimentarios*. 1995, p. 520.
- [64] Ministerio de Salud, *Resolución 10593 De 1985*. 1985, p. 13.
- [65] I. de N. T. y C. Colombia, "Industrias alimentarias colorantes aditivos para alimentos," p. 7, 2001, [Online]. Available:
http://files.aditalimentarios.webnode.es/200000042-ea1dcec11e/NTC409_colorantes aditivos para alimentos.pdf.
- [66] I. C. del B. Familiar, *Derecho del Bienestar Familiar [DECRETO_2106_1983]*. 1983.
- [67] Ministerio de salud y protección social, "Resolucion 2674 de 2013," *Minist. salud y protección Soc.*, p. 37, 2013, [Online]. Available:
<https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/DIJ/resolucion-2674-de-2013.pdf>.
- [68] C. de R. T. y C.- INDECOPI, "Norma Técnica Peruana ISO 5492 :2008," p. 37, 2008, [Online]. Available: <https://es.scribd.com/document/234407935/NTP-ISO-5492-2008-Analisis-Sensorial-Vocabulario>.
- [69] N. E. R. Sciences, "AOAC Official Method 981.12 pH of Acified Foods." pp. 1–2, 1982, [Online]. Available:

- <https://doc.mbalib.com/view/71ba7f4759ab1b659d194fd1222526a3.html>.
- [70] ICONTEC, *NTC 440-Productos alimenticios-Métodos de ensayo*. 1971, p. 50.
- [71] A. de S. Bentes, H. A. L. de Souza, J. Amaya-Farfan, A. S. Lopes, and L. J. G. de Faria, "Influence of the composition of unripe genipap (*Genipa americana* L.) fruit on the formation of blue pigment," *J. Food Sci. Technol.*, vol. 52, no. 6, pp. 3919–3924, 2015, doi: 10.1007/s13197-014-1651-9.
- [72] L. Atarés, "Determinación de la densidad de un líquido con el método del picnómetro," *Dep. Tecnol. Aliment. Univ. Politécnica Val.*, p. 5, 2013, [Online]. Available: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/12655/11>. Artículo docente. Determinación de la densidad de un líquido con el método del picnómetro.pdf?sequence=1.
- [73] M. Moscoso and M. Ochoa, "Catalogo De Densidades Y Consistencias De Alimentos Como Herramienta Para Estimacion De Porciones Alimentarias En Niños Y Adultos De La Ciudad De Cuenca," *Articulo Ecuador*, 2013. .
- [74] "ANEXO 5 942.15 (acidity).pdf." p. 2, 1942, [Online]. Available: http://www.dspace.espol.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/123456789/25528/ANEXO_5_942.15.pdf?sequence=7&isAllowed=y.
- [75] D. D. E. Souza *et al.*, "Caracterização química de frutos de jenipapeiros nativos do Recôncavo Baiano visando ao consumo natural e industrialização," pp. 964–969, 2008, [Online]. Available: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452008000400021.
- [76] F. R. Hamacek, A. V. B. Moreira, H. S. D. Martino, S. M. R. Ribeiro, and H. M. Pinheiro-Sant'Ana, "Valor Nutricional , Caracterização Física E Físico-Química De Jenipapo (*G Enipa Americana L .*) Do," *Braz. J. Food Nutr.*, vol. 24, no. 1, pp. 73–77, 2013.
- [77] E. Quinza and M. Lopez, "Indices de madurez de frutos citricos," *Hojas Divulg.*, vol. 25, p. 20, 1978, [Online]. Available: http://www.mapama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1978_25.pdf.
- [78] "AOAC Official Method 931.04 Moisture in Cacao Products," vol. 20, no. 1931, pp. 2000–2000, 2000, [Online]. Available: <http://m.wdfxw.net/Fulltext22905993.htm>.

- [79] R. G. C. L. Porto, B. V. S. Cardoso, N. V. dos A. Barros, E. M. F. Cunha, M. A. da M. Araújo, and R. S. dos R. Moreira-Araújo, “Chemical Composition and Antioxidant Activity of *Genipa Americana* L. (Jenipapo) of the Brazilian Cerrado,” *J. Agric. Environ. Sci.*, vol. 3, no. 4, pp. 51–61, 2014, doi: 10.15640/jaes.v3n4a4.
- [80] V. R. De Souza, P. A. P. Pereira, F. Queiroz, S. V. Borges, and J. De Deus Souza Carneiro, “Determination of bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Cerrado Brazilian fruits,” *Food Chem.*, vol. 134, no. 1, pp. 381–386, 2012, doi: 10.1016/j.foodchem.2012.02.191.
- [81] “AOAC Official Method 940.26 Ash of Fruits and Fruit Products,” p. 2005, 2005, [Online]. Available: <https://es.scribd.com/document/339453472/AOAC-Official-Method-940-26-Ash-of-Fruits-and-Fruit-Products>.
- [82] R. A. Pérez and R. R. E. V. Quezada, “Determinación de la capacidad antioxidante de los extractos de los frutos verdes de *Genipa americana* L. de República Dominicana,” 2016.
- [83] P. Pacheco, J. G. Da Paz, C. O. Da Silva, and G. B. Pascoal, “COMPOSIÇÃO CENTESIMAL, COMPOSTOS BIOATIVOS E PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DO JENIPAPO (*Genipa americana* L.) IN NATURA,” *DEMETRA Aliment. Nutr. Saúde*, vol. 9, no. 4, 2014, doi: 10.12957/demetra.2014.11310.
- [84] “AOAC Official Method 2001.11 Protein (Crude) in Animal feed, Forage (Plant Tissue), Grain, and Oilseeds.” p. 3, 2001, doi: 10.1016/s0016-0032(35)91522-8.
- [85] 39 C AOAC 923, “Determinación de Grasa total - Unidad de Innovación.” Universidad de Murcia, 2021, [Online]. Available: <https://www.um.es/web/innovacion/plataformas/ocw/listado-de-cursos/higiene-inspeccion-y-control-alimentario/practicas/determinacion-de-grasa-total>.
- [86] AOAC, “AOAC Official Method 962.09 Fiber (Crude) in Animal Feed and Pet Food,” pp. 1–3, 2000, [Online]. Available: https://www.academia.edu/39799330/AOAC_962_09_FIBRE_CRUDE_IN_ANIMAL_FEED_AND_PET_FOOD.
- [87] M. Olvera, C. Martinez, and E. Real de Leon, “Manual De Tecnicas Para Laboratorio De Nutricion De Peces Y Crustaceos,” *Documento preparado para el Proyecto GCP/RLA/102/ITA Apoyo a las Actividades Regionales de Acuicultura*

- para América Latina y el Caribe (AQUILA II)*, FAO., vol. No 7. p. 120, 1993, [Online]. Available: <http://www.fao.org/3/AB489S/AB489S03.htm>.
- [88] E. Capuano, M. Alewijn, S. M. Van Ruth, and J. Verkaik-Kloosterman, “Analytical standards for the measurement of nutrients in infant formula,” 2012, [Online]. Available: <http://library.wur.nl/WebQuery/wurpubs/435035>.
- [89] Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, “Aplicación del Protocolo de Nagoya en el desarrollo y comercialización de un producto derivado de la jagua (*Genipa americana*),” 2016. [Online]. Available: <http://fondoaccion.org/wp-content/uploads/2020/10/2016-Cartilla-caso-y-disposiciones-Nagoya.pdf>.
- [90] T. Landwehr, “La deshidratación de frutas: Métodos y posibilidades,” p. 16, 1999, [Online]. Available: https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/16172/40198_24827.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
- [91] Christie Geankoplis, *Transport processes and unit operations*, 3ra ed. University of Minnesota, 2003.
- [92] A. D. S. Bentes and A. Z. Mercadante, “Influence of the stage of ripeness on the composition of iridoids and phenolic compounds in genipap (*Genipa Americana* L.),” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 62, no. 44, pp. 10800–10808, 2014, doi: 10.1021/jf503378k.
- [93] FDA, “Food Additive Status List | FDA,” *U.S Food and Drug Administration*, 2019. <https://www.fda.gov/food/food-additives-petitions/food-additive-status-list>.
- [94] Departamento de Salud de New Jersey, “Hoja informativa sobre sustancias peligrosas,” *Hoja Inf. sobre Subst. peligrosas*, p. 6, 2002, [Online]. Available: nj.gov/health/eoh/rtkweb/documents/.../0841sp.pdf.
- [95] M. de Justicia, “Resolución 0001 DE 2015.” 2015, [Online]. Available: <http://suin-juriscal.gov.co/viewDocument.asp?ruta=Resolucion/30031758>.
- [96] EPA, “Ethanol added to food / beverages and Tier II reporting (i.e., EPCRA Section 312),” 2019. <https://www.epa.gov/epcra/ethanol-added-food-beverages-and-tier-ii-reporting-ie-epcra-section-312#:~:text=Ethyl alcohol is considered a,at a level of 0.3%25>.
- [97] C. C. M. PERLACIO and G. D. C. ENRIQUEZ, “Ingeniero Agroindustrial,” 2015.

- [98] C. E. G. RUIZ, "Determinación del rendimiento del colorante obtenido del fruto Huito (Genipa Americana L.) durante el periodo de un año en la región de Ucayali, Perú.," 2019.
- [99] Merck, "Etanol CAS 64-17-5 | 108543."
https://www.merckmillipore.com/CO/es/product/Ethanol,MDA_CHEM-108543.
- [100] M. F. Butler, Y. F. Ng, and P. D. A. Pudney, "Mechanism and kinetics of the crosslinking reaction between biopolymers containing primary amine groups and genipin," *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.*, vol. 41, no. 24, pp. 3941–3953, 2003, doi: 10.1002/pola.10960.
- [101] A. M. Ramos-de-la-Peña, J. C. Montañez, M. de la L. Reyes-Vega, M. E. Hendrickx, and J. C. Contreras-Esquivel, "Recovery of genipin from genipap fruit by high pressure processing," *Lwt*, vol. 63, no. 2, pp. 1347–1350, 2015, doi: 10.1016/j.lwt.2015.04.038.
- [102] I. A. Neri-Numa, M. G. Pessoa, B. N. Paulino, and G. M. Pastore, "Genipin: A natural blue pigment for food and health purposes," *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 67, pp. 271–279, 2017, doi: 10.1016/j.tifs.2017.06.018.
- [103] M. I. L. Neves, M. M. Strieder, E. K. Silva, and M. A. A. Meireles, "Milk colloidal system as a reaction medium and carrier for the natural blue colorant obtained from the cross-linking between genipin and milk proteins," *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, vol. 61, no. March, p. 102333, 2020, doi: 10.1016/j.ifset.2020.102333.
- [104] L. F. Echeverry, S. P. Zapata, and L. F. Torres, "US 007927637B2," US 7,927,637 b", 2011.
- [105] R. Chang and K. Goldsby, *Química*, 12th ed., no. 2017. Mc Graw Hill, 2017.
- [106] A. Siqueiros, "Aplicación de la Metodología de Superficies de Respuesta para el Mejoramiento de la Calidad del Aceite de Soya," 2004.
- [107] Ana María Lara Porras, "Capítulo 6 Diseños factoriales con tres factores.," in *Diseño estadístico de experimentos, análisis de la varianza y temas relacionados tratamiento informático mediante SPSS*, 2000 Granada : Proyecto Sur, Ed. Granada, 2000, pp. 1–10.
- [108] M. Buchweitz, J. Brauch, R. Carle, and D. R. Kammerer, "Colour and stability

- assessment of blue ferric anthocyanin chelates in liquid pectin-stabilised model systems,” *Food Chem.*, vol. 138, no. 2–3, pp. 2026–2035, 2013, doi: 10.1016/j.foodchem.2012.10.090.
- [109] N. A. Diaz, J. A. B. Ruiz, E. F. Reyes, A. G. C. J. J. N. J. P. P. F. T. M.- Valdés, and I. T. Fiñana, “Espectrofometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas,” pp. 1–8, doi: 10.4271/841496.
- [110] S. W. Lee, J. M. Lim, S. H. Bhoo, Y. S. Paik, and T. R. Hahn, “Colorimetric determination of amino acids using genipin from *Gardenia jasminoides*,” *Anal. Chim. Acta*, vol. 480, no. 2, pp. 267–274, 2003, doi: 10.1016/S0003-2670(03)00023-0.
- [111] N. López Carreras, M. Miguel, and A. Aleixandre, “Propiedades beneficiosas de los terpenos iridoides sobre la salud,” *Nutr. Clin. y Diet. Hosp.*, vol. 32, no. 3, pp. 81–91, 2012.
- [112] D. Marcano and M. Hasegawa, *Fitoquímica Orgánica*, 3ra Edició. Venezuela: Universidad Central de Venezuela / Consejo de desarrollo científico y humanístico, 2018.
- [113] M. V. Luque Guillen, “Estructura Y Propiedades de las Proteínas,” *Bioquímica Médica*, vol. 5, pp. 1–34, 2009, [Online]. Available: https://www.uv.es/tunon/pdf_doc/proteinas_09.pdf.
- [114] Minitab, “¿Qué es ANOVA?,” 2019. <https://support.minitab.com/es-mx/minitab/18/help-and-how-to/modeling-statistics/anova/supporting-topics/basics/what-is-anova/> (accessed Jul. 25, 2021).
- [115] R. S. Juan, “La química de los colorantes en los alimentos,” *Química Viva*, vol. 12, pp. 234–246, 2013.
- [116] D. Marcano, *Introducción a la Química de los Colorantes*. Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales, 2018.
- [117] R. A. de Ingeniería, “Estabilidad de color.” 2021, [Online]. Available: <http://diccionario.raing.es/es/lema/estabilidad-de-color>.
- [118] E. Espinosa, “Hypothesis in research,” *Mendive Rev. Educ.*, vol. 16, no. 1, pp. 1815–7696, 2018, [Online]. Available: <http://scielo.sld.cu/pdf/men/v16n1/1815-7696-men-16-01-122.pdf>.

- [119] L. C. Balboa, "Que es la intensidad de color, Apuntes de Diseño gráfico," *Docsity*, 2021. <https://www.docsity.com/es/que-es-la-intensidad-de-color/4562086/>.
- [120] P. Montoya and J. G. Castaño, "Validación de un método cromatográfico y determinación de sulfatos en productos de corrosión atmosférica del zinc expuesto en ambientes de SO₂ y NO₂ Validation of a chromatographic method and its use in the determination of sulphates in the products of," no. 2, pp. 84–96, 2005, [Online]. Available: <https://www.redalyc.org/pdf/430/43003308.pdf>.
- [121] Real Academia Española, "Nanómetro," 2021. <https://dle.rae.es/nanómetro> (accessed Jul. 25, 2021).
- [122] H. NURSTEN, "Umami: A Basic Taste. Physiology, Biochemistry, Nutrition, Food Science," *J. Nutr.*, vol. 117, no. 9, pp. 1644–1644, 1987, doi: 10.1093/jn/117.9.1644.
- [123] E. L. Fernández, *Alimentos funcionales o nutraceuticos*, vol. 57, no. 337. 2007.

GLOSARIO

Aditivo alimentario: “es cualquier sustancia que por sí misma no se consume normalmente como alimento, ni tampoco se usa como ingrediente básico en alimentos, tenga o no valor nutritivo y cuya adición al alimento en sus fases de producción, fabricación, elaboración, preparación, tratamiento, envasado, empaquetado, transporte o almacenamiento, resulte directa o indirectamente por sí o sus subproductos, un componente del alimento o bien afecte a sus características” [111].

Aglicona: también conocida como genina, es la porción diferente del azúcar que se obtiene por hidrolisis de los glicósidos [112].

Aminoácido: son compuestos orgánicos que forman las proteínas. Su esqueleto se basa en un grupo amino (-NH₂) y otro carboxilo o ácido (-COOH) que se unen a un carbono α (-C-). Estas unidades básicas son clasificadas como esenciales y no esenciales según su producción en el cuerpo humano [113].

ANOVA: es un análisis de varianza la cual justifica la hipótesis de que las medias de dos o más poblaciones son equivalentes. Además, permite estimar la importancia de uno o más factores al comparar las medias de la variable de respuesta en los diferentes niveles de los factores [114].

Colorante alimentario: es una sustancia química con la capacidad de absorber ciertas longitudes de onda en un rango determinado del espectro de luz que importan o desarrollan color. Son empleados como aditivos en productos destinados a consumo para recuperar, resaltar o dotar de color a un alimento tras un proceso industrial [115], [116].

Estabilidad del color: resistencia de los materiales o compuestos a cambios de color producidos por la luz o el envejecimiento [117].

Extracción Soxhlet: es una operación unitaria de transferencia de masa basada en el uso de disolventes la cual es simple y de fácil operación. Por lo general, la muestra se encuentra libre de agua para evitar cualquier tipo de reacción con el disolvente. En el equipo, el tiempo que sea necesario, la materia prima se somete a determinadas temperaturas para poder obtener los extractos con los compuestos afines al disolvente [43].

Genipa: es una baya comestible de color pardo semiesférica y globosa con una textura ligeramente escabrosa que crece en el árbol conocido como *Genipa americana L* de la familia *Rubiaceae*. Recibe otros nombres tales como caruto, jagua, jenipapo y/o huito. [17].

Genipina: es un monoterpeno incoloro de fórmula química $C_{11}H_{14}O_5$ soluble en compuestos polares [42]. Tiene la capacidad de reaccionar con moléculas y cadenas orgánicas con grupos amino para producir tintes de distintos colores [46] además de poseer propiedades anticolélicas, antiinflamatorias y antidepresivas contra cáncer y obesidad [4].

Hipótesis alternativa: es el resultado de respaldo que solo juega una parte en la prueba si la hipótesis nula conduce a un rechazo de la hipótesis [118].

Hipótesis nula: es la afirmación que se pondrá a prueba [118].

Intensidad del color: también denominado saturación, es el grado de pureza de un color, es decir que no se incorpora con otros colores, ni luz ni sombra [119]

Iridoides: son un grupo de monoterpenos bicíclicos de estructura abierta o cerrada en forma heterosídica mayoritariamente como glucósidos. Su estructura química abarca un anillo de ciclopentano- [C] –pirano típicamente fusionado con un heterociclo oxigenado de seis miembros lo que les otorga propiedades amebicidas, antiinflamatorias y antimicrobianas [40], [111] .

Límite de cuantificación: se define como la mínima cantidad de analito que puede determinarse cuantitativamente con una adecuada exactitud y precisión. Con especial interés en la determinación de concentraciones bajas de analito [120].

Límite de detección: es la mínima cantidad de analito en una muestra que puede ser detectado, no necesariamente cuantificado, con precisión y exactitud [120].

Nanómetro: medida de longitud que equivale a la milmillonésima (10^{-9}) parte del metro. Símbolo (nm) [121].

Proteína: es una cadena lineal de aminoácidos que poseen una misma estructura central; la secuencia de aminoácidos determina la forma y, por lo tanto, su función. Existen diversos criterios de clasificación según su función, composición, estructura, etc [113].

Tono del color: es el nombre y estado etéreo de cada color, que posibilita caracterizar y realizar el trayecto de un tono hacia uno u otro lado del círculo cromático. También es considerado como una cualidad copartícipe con la longitud de onda preponderante en la mezcla de ondas luminosas, siendo la sumatoria de longitudes de onda que puede reflejar una superficie [19]

Umami: es el quinto sabor que perciben las papilas gustativas, es una palabra japonesa, significa delicioso [122].

Secoroide: es un tipo de monoterpenos derivados del geraniol. Tienen la fórmula general del ciclopentanopirano, pero uno de los anillos está roto, como la oleuropeína y sus formas conjugadas. [123]

ANEXOS

ANEXO 1.

RECOMENDACIONES

Se considera necesario ejecutar una caracterización organoléptica y fisicoquímica del fruto *Genipa americana L.* recolectado en otros municipios de Colombia, analizando las posibles discrepancias que se puedan llegar a presentar respecto a los datos analizados de este trabajo de acuerdo a su variedad, maduración, clima, manipulación, preparación y técnica de extracción.

Es sugerible evaluar otro tipo de variables al establecer las condiciones de operación para la extracción y purificación de la genipina, estudiando el comportamiento de la temperatura y pH a través del tiempo, así mismo aplicar de manera práctica la metodología de identificación y purificación de la genipina.

Se aconseja determinar el rendimiento de la extracción total obtenido con presencia en genipina, mediante otros métodos no convencionales y con otro tipo de disolventes, los cuales permitan alcanzar mejores porcentajes de recuperación del iridoide de interés.

Así mismo, es recomendable emplear y validar otro tipo de diseño de experimentos que permita demostrar un comportamiento de mayor precisión de la influencia de cada factor, además de evaluar otro tipo de variables como la temperatura que puedan ocasionar un cambio a futuro del color azul en la distribución, procesamiento y almacenamiento de este producto.

En caso de desarrollar esta propuesta a escala semi-piloto o piloto, cabe resaltar la posibilidad de usar equipos más robustos como aspersores de riego, despulpadoras y filtros industriales con el propósito de limpiar, descortezar y separar las partículas sólidas del fruto, de manera que faciliten la operación y procesamiento de la Jagua, así mismo ofrecer distintas alternativas para el aprovechamiento de los residuos de la fruta en la elaboración de otro tipo de productos; teniendo en cuenta la evaluación financiera de la producción de colorante azul a partir de los costos y gastos asociados al proceso.

ANEXO 2.
FICHAS TÉCNICAS



Glicina

CERTIFICATE OF ANALYSIS

ISO 9001-2008

REGISTERED

Product Name	: GLYCINE 99% AR/ACS	Analyzed On	: 01-Aug-2019
Lot No.	: B310321908	Mol. Weight	: 75.07
Mol. Formula	: H ₂ NCH ₂ COOH	CAS No.	: 56-40-6
Code No.	: 03976	Exp. Date	: Jul-2024
Mfg. Date	: Aug-2019	UN No.	: -
HAZ. / P.G.	: -		

Sr	Tests	Specifications	Results
1	Appearance	White crystalline powder	White crystalline powder
2	Assay (by HClO ₄ titration)	99.0-101.0%	99.69%
3	Identification	Passes test	Passes test
4	Solubility	Passes test	Passes test
5	Appearance of solution	Passes test	passes test
6	pH (5 % solution)	5.9-6.3	6.14
7	Insoluble matter in water	Max 0.005%	< 0.005%
8	Hydrolizable substance	Passes test	passes test
9	Substance darkened by H ₂ SO ₄	Passes test	Passes test
10	Chloride (Cl)	Max 0.003%	0.0020%
11	Heavy metal (as Pb)	Max 0.001%	0.0001%
12	Sulphate (SO ₄)	Max 0.005%	0.0035%
13	Loss on drying (at 105°C)	Max 0.2%	0.0083%
14	Residue on ignition	Max 0.05%	0.05%
15	Ammonium (NH ₄)	Max 0.005%	0.0037%
16	Iron (Fe)	Max 0.001%	0.0004%
17	Arsenic (As)	Max 0.0001%	< 0.0001%

18	Copper (Cu)	Max 0.0005%	0.00014%
19	Nickel (Ni)	Max 0.0005%	0.00005%
20	Lead (Pb)	Max 0.0005%	0.0001%

This above product complies as per the specifications of LOBA CHEMIE PVT. LTD.

This document has been produced electronically and it is valid without signature.

CERTIFICATE OF ANALYSIS

ISO 9001-2008

REGISTERED

Product Name : L-LYSINE MONOHYDROCHLORIDE 98.5% For Synthesis
Lot No. : L33766Z2007 Analyzed On : 30-Jul-2020
Mol. Formula : C6H15CIN2O2 Mol. Weight : 182.65
Code No. : 04455 CAS No. : 657-27-2
Mfg. Date : Jul-2020 Exp. Date : Jun-2025
HAZ. / P.G. : - UN No. : -

Sr.	Tests	Specifications	Results
1	Appearance	White crystalline powder	White crystalline powder
2	Assay (by HClO4 titration; on dried basis)	98.5 - 101%	99.69%
3	Identification	To comply USP test	Passes test
4	Chloride content	19.0 -19.6%	19.32%
5	Specific optical rotation ($[\alpha]_{20/D}$; c=8 in HCl; on dried substance)	+20.4 to +21.4°	21.2458°
6	Loss on drying (at 105°C ; 3 hrs)	Max 0.4%	0.075%
7	Residue on ignition	Max 0.1%	0.038%
8	Iron (Fe)	Max 0.003%	0.0017%
9	Heavy metal (as Pb)	Max 0.0015%	0.000046%
10	Sulphate (SO4)	Max 0.03%	0.03%
11	Chromatographic purity (by HPLC)	To comply USP test	Passes test
12	Residual solvents	To meet the requirement	Passes test

CONCLUSION -This above product complies as per the specifications of LOBA CHEMIE PVT. LTD.

Alcohol Etílico 99%



NIT. 830.012.275-1

FICHA TÉCNICA

ALCOHOL ETÍLICO 99%

PT210952, PT310953, PT410954, PT510955, R2202, R2203, R2204, R2205

GENERALIDADES

El reactivo ALCOHOL ETÍLICO 99% de YEQUIM LTDA es preparado siguiendo un riguroso programa de calidad, administrado desde hojas de producción computarizadas y pasando por una serie de verificaciones compuesta por tres niveles: la primera de tipo metrológico, la segunda de control de proceso y la tercera de seguimiento al producto terminado, todo ello para garantizar la confiabilidad del reactivo.

YEQUIM LTDA entrega la solución en envases de:

Poliétileno de alta densidad., lista para que usted la utilice con seguridad y confianza.

Además la etiqueta y certificado del producto contiene:

- La información básica sobre sus características físicas y químicas.
- Las especificaciones como compromiso contractual.
- La información necesaria en cuanto a instrucciones de
- Los cuidados mínimos de manejo.
- Los primeros auxilios en caso de accidentes.
- La recomendación básica para la disposición ambiental de los residuos.
- Los códigos de riesgo.
- La indicación sobre áreas de almacenamiento según el riesgo estimado.

COMPOSICIÓN

ALCOHOL ETILÍCO 99%

PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS

Punto de fusión °C -114

Punto de ebullición °C 78-79

Densidad (20/20 °C) 0.804 g/cm³

Tensión de vapor (mbar) 59

Punto de inflamabilidad °C 12

ESPECIFICACIONES

Especificación Límite Norma

Acetona, IPA. PASA TEST ACS 8a EDICIÓN.

Ácidos titulables 0 - 0.005 meq/g ACS 8a EDICIÓN.

Apariencia PASA TEST ACS 8a EDICIÓN.

Bases titulables 0 - 0.002 meq/g ACS 8a EDICIÓN.

Carbonizables H₂SO₄ PASA TEST ACS 8a EDICIÓN.

Color 0 - 10 APHA ACS 8a EDICIÓN.

Densidad (20/20 °C) 0.804 - 0.809 ACS 8a EDICIÓN.

Metanol 0 - 0.1 % ACS 8a EDICIÓN.

Reducibles por Mínimo 5 min. ACS 8a EDICIÓN.

Residuos 0 - 0.001% ACS 8a EDICIÓN.

Solubilidad en agua PASA TEST ACS 8a EDICIÓN.

Turbidez 0 - 0.4 NTU ACS 8a EDICIÓN.

Certificada según ANÁLISIS REFERENCIADOS ACS 8ª EDICIÓN.

Carrera 81 B No. 8D - 51, Bogotá D.C.
PBX: (57+1) 402 53 95 Fax: Ext. 108
email: calidad@yequim.com

Agua desionizada.



FICHAS DE INFORMACIÓN TÉCNICA AGUA DESTILADA (DESIONIZADA) Sinónimos: Agua desmineralizada.

INCI: Agua.

Formula Molecular: H₂O

Peso Molecular: 18,02

Descripción: El Agua destilada (desionizada) se prepara mediante el siguiente método, a partir de agua destinada al consumo humano (agua de la red pública):

1. Filtración de macropartículas a través de sílex.
2. Microfiltración a través de filtros de 1 y 5 µm.
3. Doble paso por ósmosis inversa.
4. Eliminación de CO₂ y otras sustancias gaseosas y volátiles.
5. Intercambio iónico mediante lecho mixto de resinas.
6. Filtración de seguridad de 1 µm.

Datos Físico-Químicos: Líquido límpido e incoloro. Densidad: 0,997 - 1,002 g/ml. Índice de refracción: aprox. 1,3330. pH: 5,0 - 7,0. Conductividad: < 4,3 µS/cm.

Propiedades y usos: El agua destilada o desionizada está destinada a usos NO farmacéuticos, como por ejemplo para uso en laboratorio (para baños de agua, etc...).

Efectos secundarios: La ingestión masiva de agua desionizada originaría una alteración del balance electrolítico.

Conservación: En envases bien cerrados. **PROTEGER DE LA LUZ.**

Carrera 81 B No. 8D - 51, Bogotá D.C.
PBX: (57+1) 402 53 95 Fax: Ext. 108
email: calidad@yequim.com
yequim@hotmail.com
www.yequim.com

ANEXO 3.
HOJA DE CATA

Nombre: _____ Fecha: _____ Panelista N° _____ Muestra: Genipa Americana L.

¿Ha fumado en los últimos 5 Si No días?

¿Padece usted alguna afección Si No visual?

¿Recibió la capacitación? Si No

A continuación, tache con una X el color que considera más cercano para la fruta evaluada según el círculo que tiene en frente:

- Análisis de Color

1. Color del mesocarpio



¿Su respuesta fue seleccionada al azar?
seleccionada al azar?

Si No

2. Color del endocarpio



¿Su respuesta fue seleccionada al azar?

Si No

3. Color de la cáscara



¿Su respuesta fue

Si No

- Análisis de Olor

A continuación, evalúe los siguientes parámetros de forma objetiva según la siguiente escala:

Grado	Intensidad
0	Sin olor
1	Muy leve
2	Débil
3	Fácilmente notable
4	Fuerte
5	Muy Fuerte

Aroma	1	2	3	4	5
Pulpa					
Cáscara					

- Análisis de Sabor

A continuación, evalúe los siguientes parámetros de forma objetiva en la siguiente escala.

Sabor Pulpa	1	2	3	4	5
Umami					
Agrio					
Dulce					
Amargo					
Salado					

- Análisis de Textura

Responda si o no según la textura de la fruta entera que usted percibe según los siguientes ítems

¿La fruta es dura? ____

¿La fruta es crujiente? ____

¿La fruta es lisa? ____

¿La fruta es suave/blanda? ____

¿La fruta es esponjosa? ____

¿La fruta es quebradiza? ____

¿La fruta es fibrosa? ____

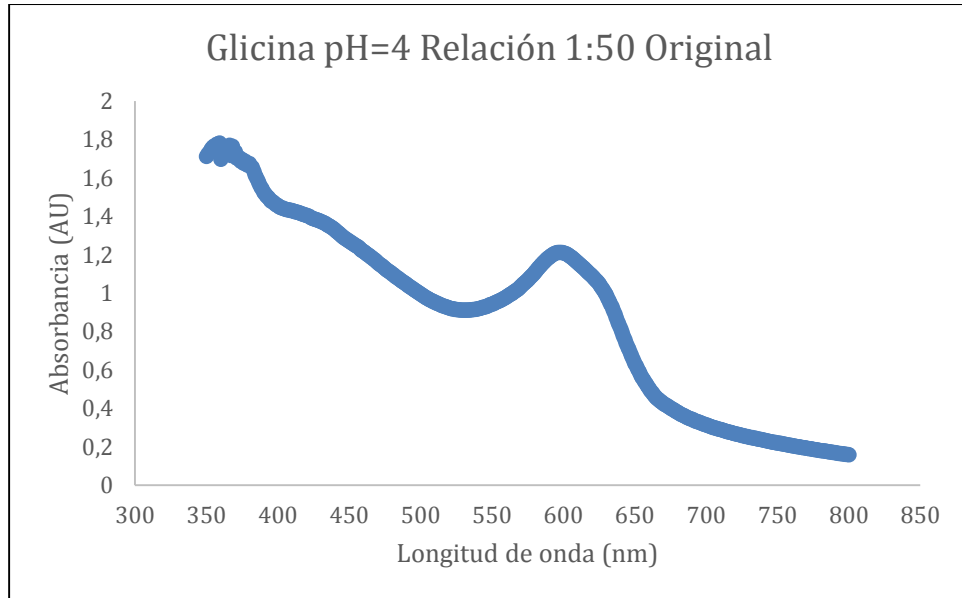
¿La fruta es áspera? ____

¿La fruta es viscosa? ____

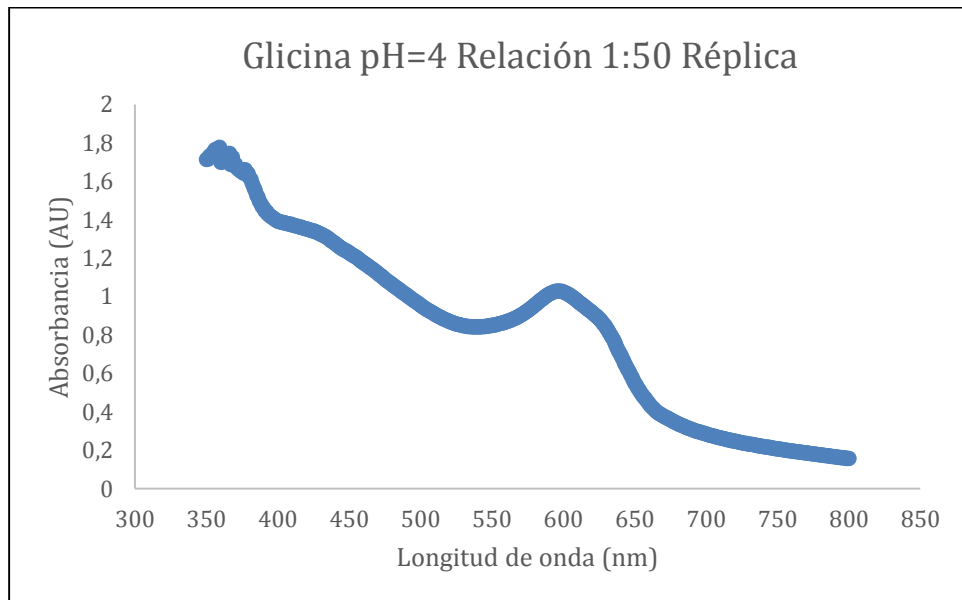
ANEXO 4.

RESULTADOS ESPECTROFOTOMÉTRICOS DE SOLUCIONES A BASE DE GLICINA Y L-LISINA MONOHIDRATADA A t=0h,96h Y 168h.

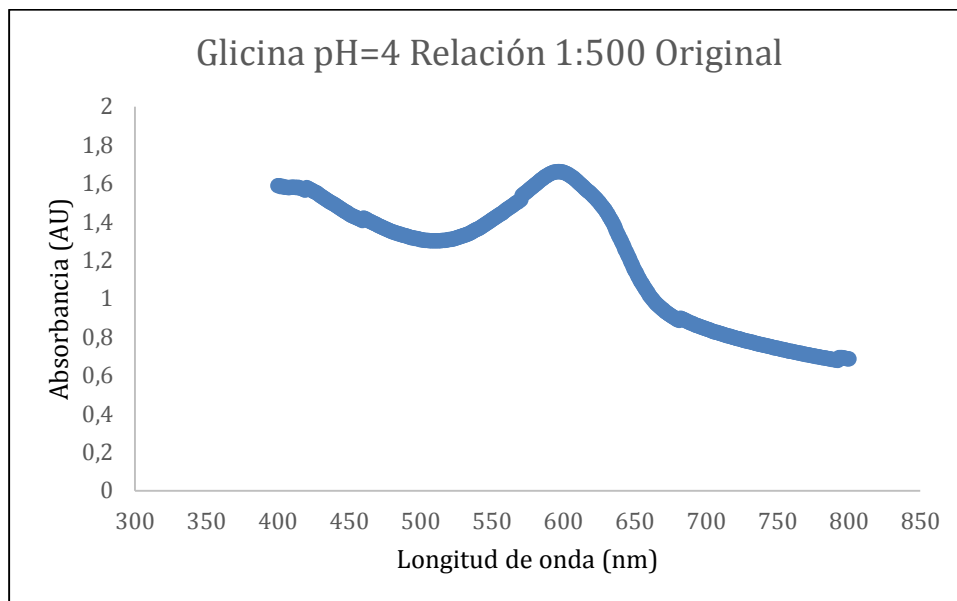
Solución Jagua:Glicina, pH=4, Relación 1:50 t =0h



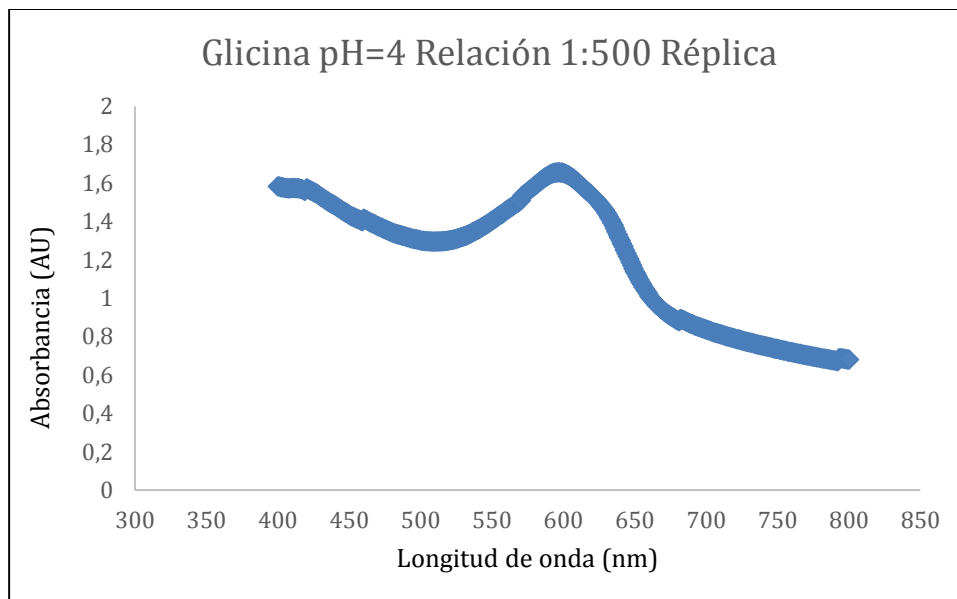
Solución Jagua:Glicina, pH=4, Relación 1:50 t =0h Réplica



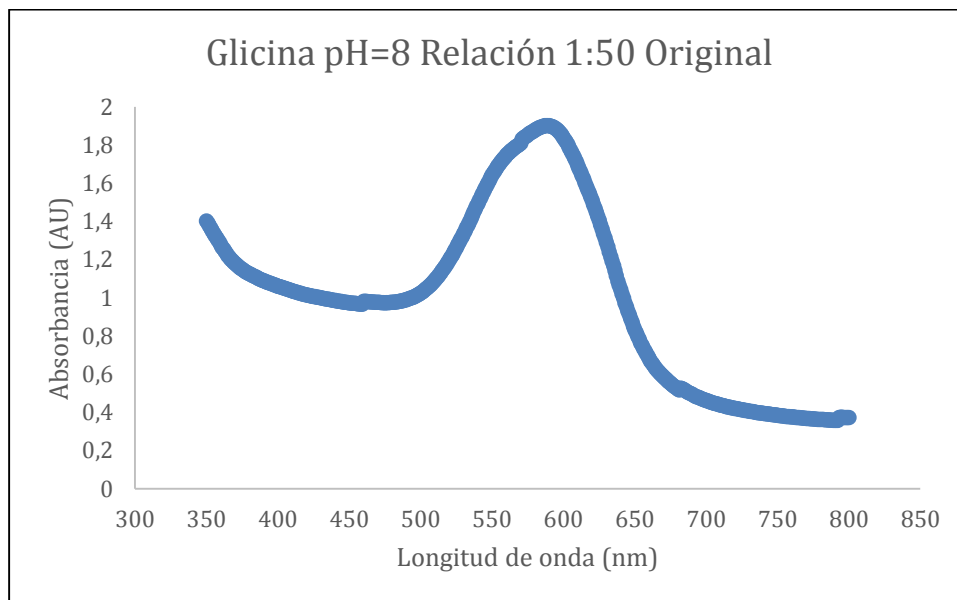
Solución Jagua:Glicina, pH=4, Relación 1:500 y t =0h



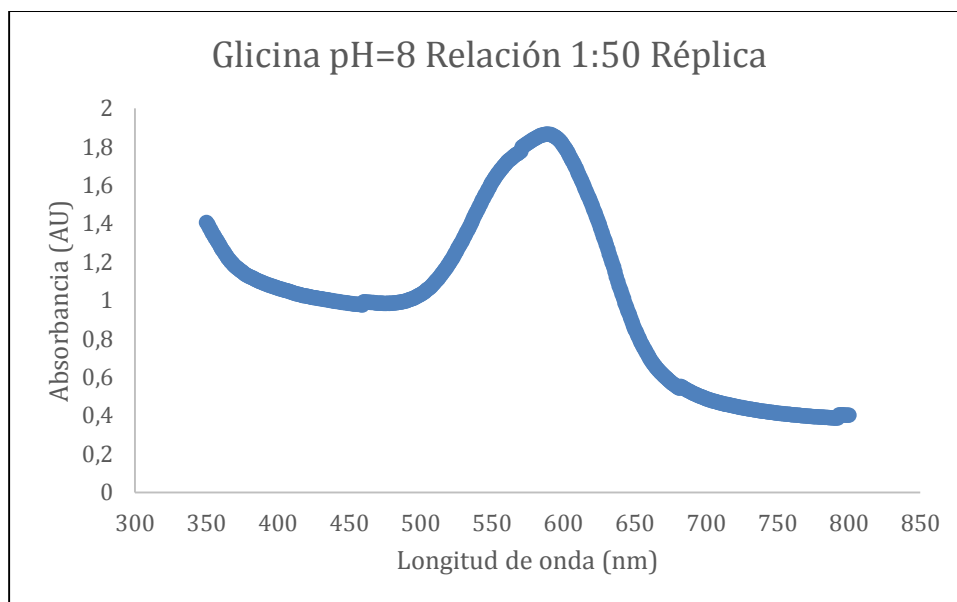
Solución Jagua:Glicina, pH=4, Relación 1:500 y t =0h Réplica



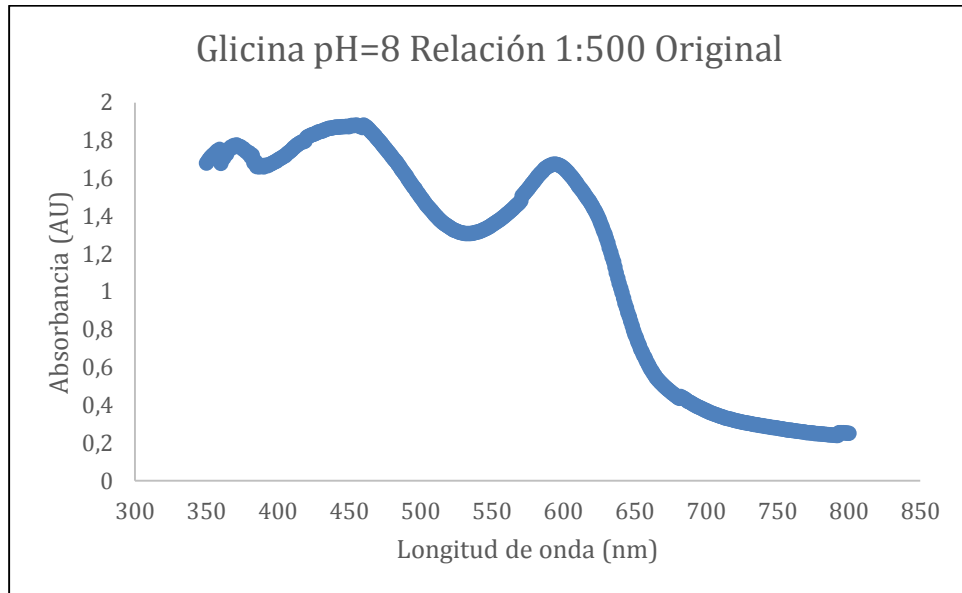
Solución Jagua:Glicina, pH=8, Relación 1:50 y t =0h



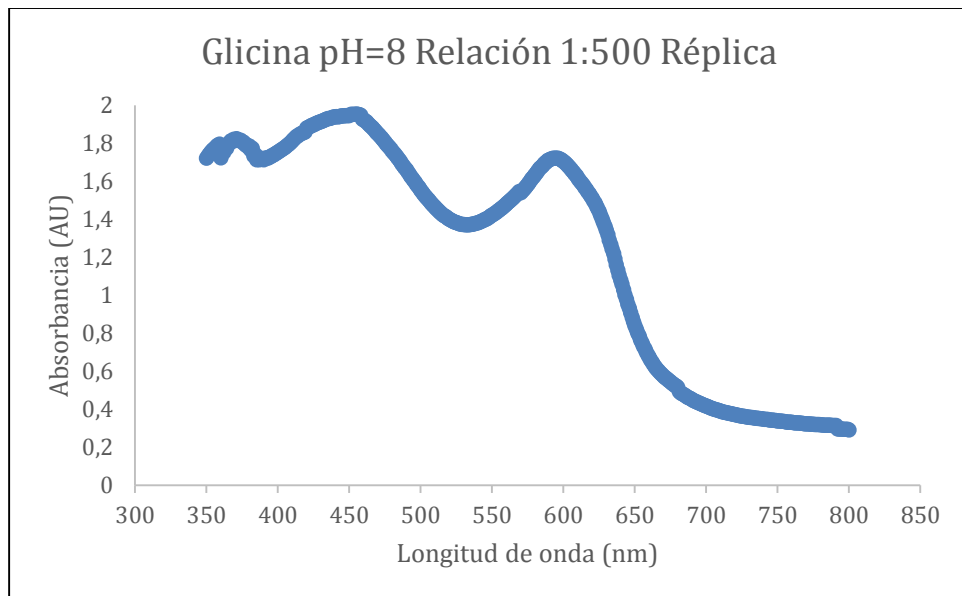
Solución Jagua:Glicina, pH=8, Relación 1:50 y t =0h Réplica



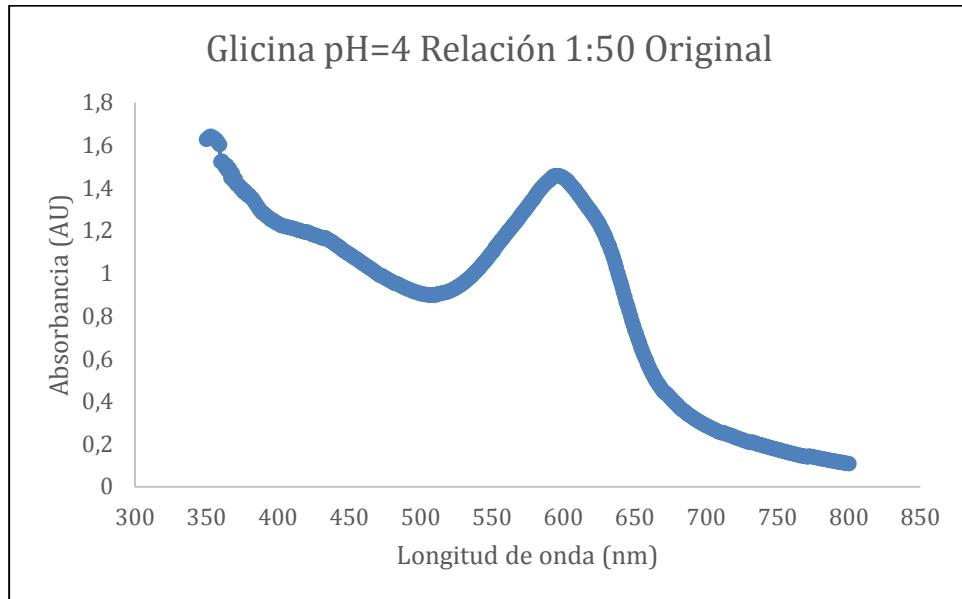
Solución Jagua:Glicina, pH=8, Relación 1:500 y t =0h



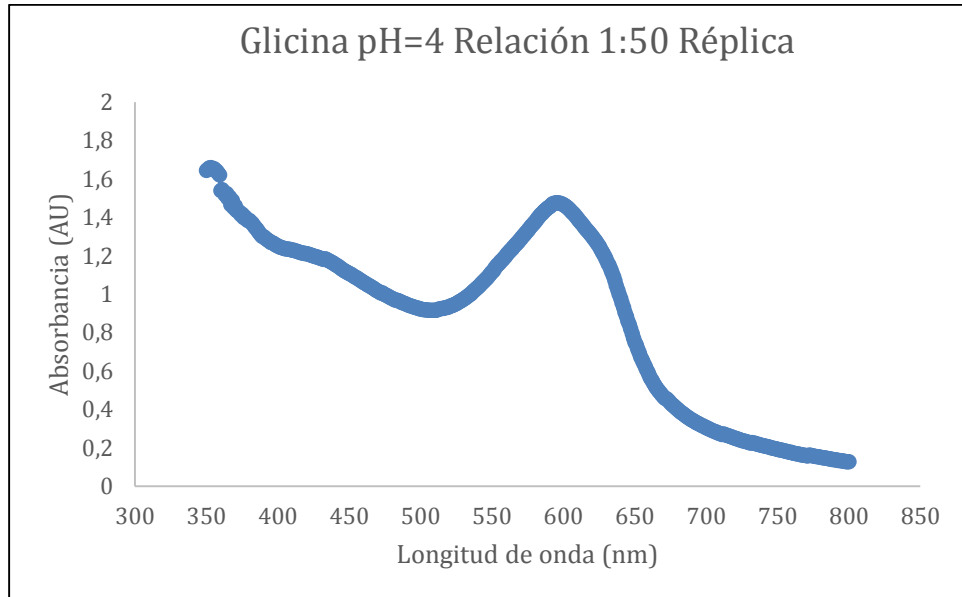
Solución Jagua:Glicina, pH=4, Relación 1:500 y t =0h Réplica



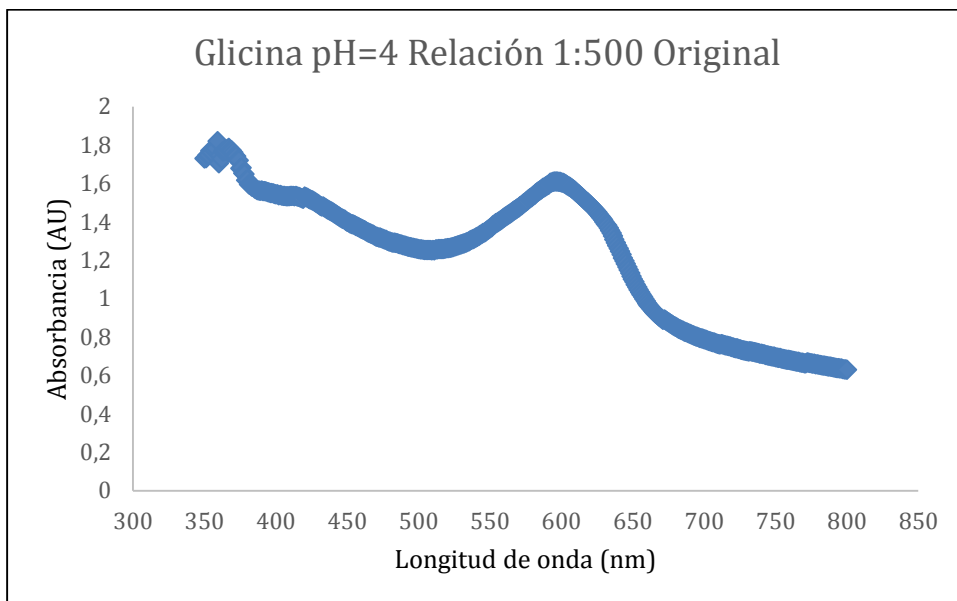
Solución Jagua:Glicina, pH=4, Relación 1:50 y t =96h



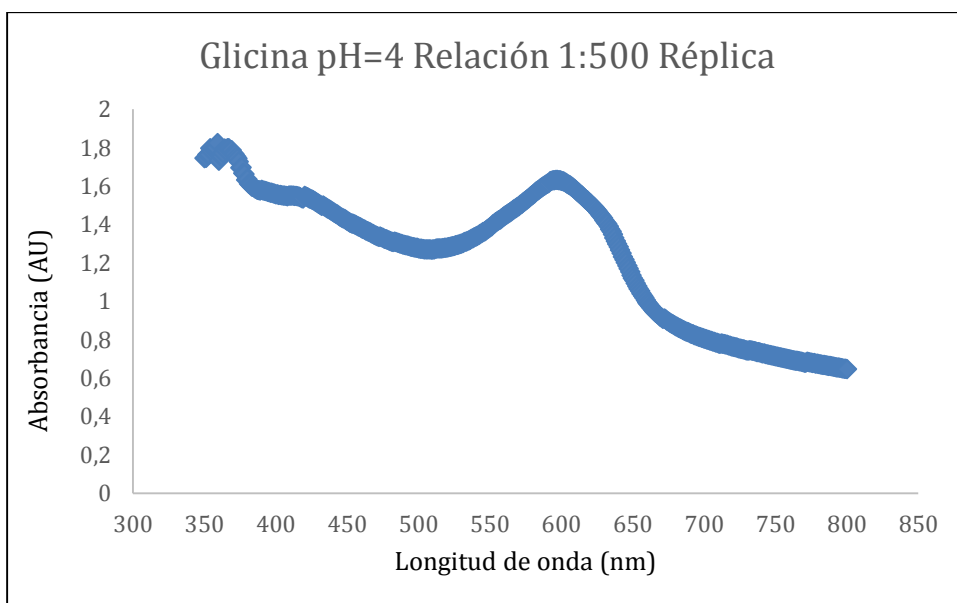
Solución Jagua:Glicina, pH=4, Relación 1:50 y t =96h Réplica



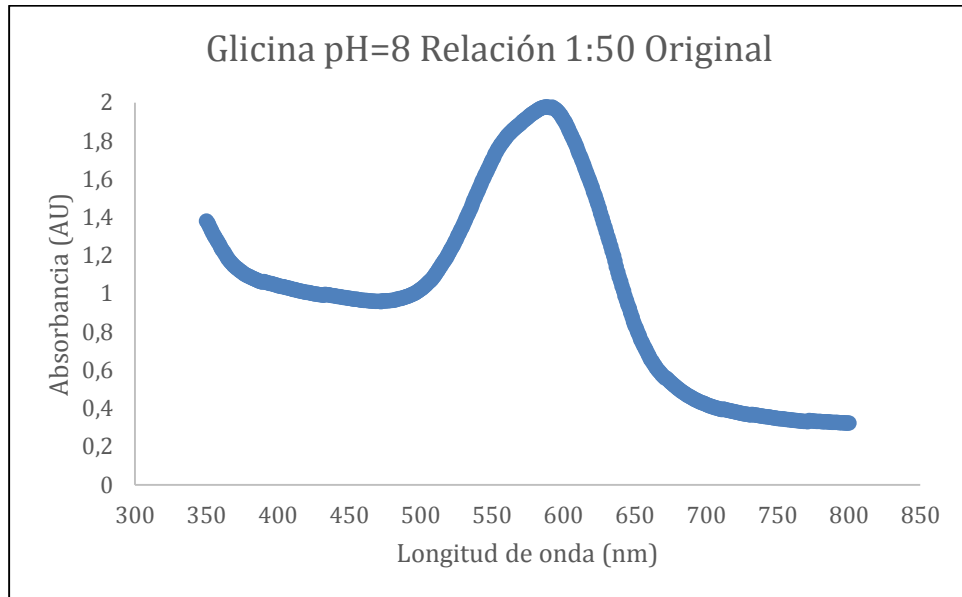
Solución Jagua:Glicina, pH=4, Relación 1:500 y t =96h



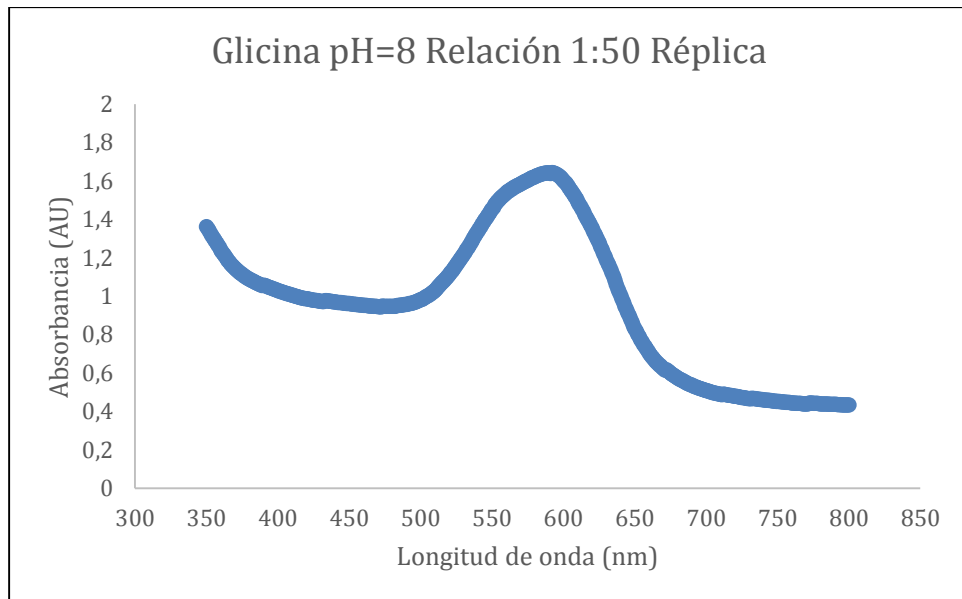
Solución Jagua:Glicina, pH=4, Relación 1:500 y t =96h Réplica



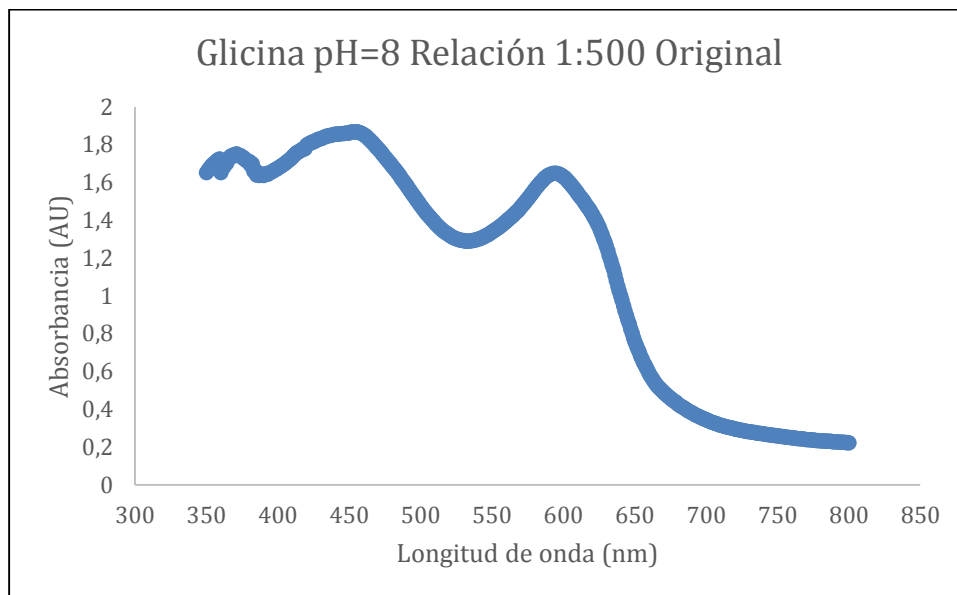
Solución Jagua:Glicina, pH=8, Relación 1:50 y t =96h



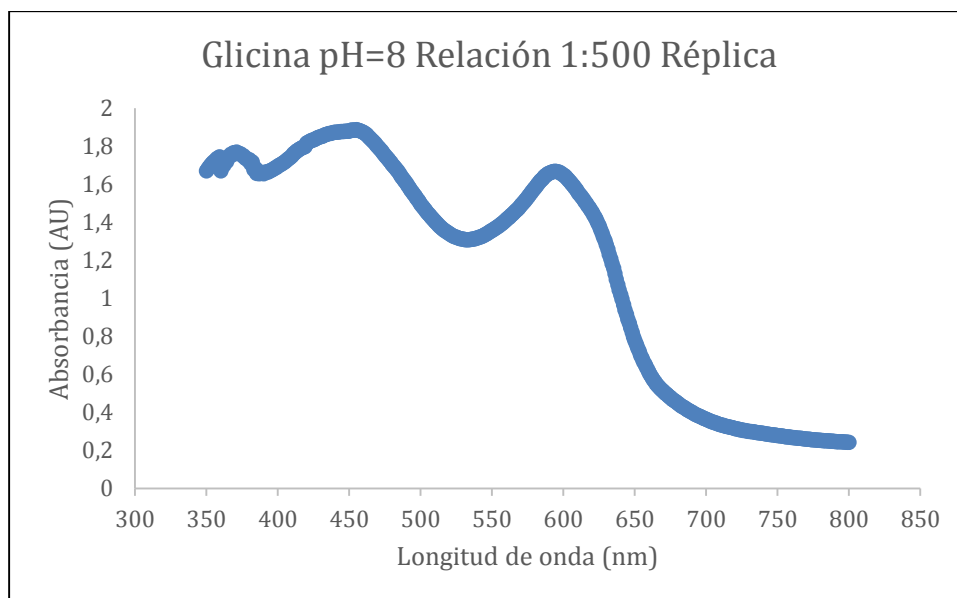
Solución Jagua:Glicina, pH=8, Relación 1:50 y t =96h Réplica



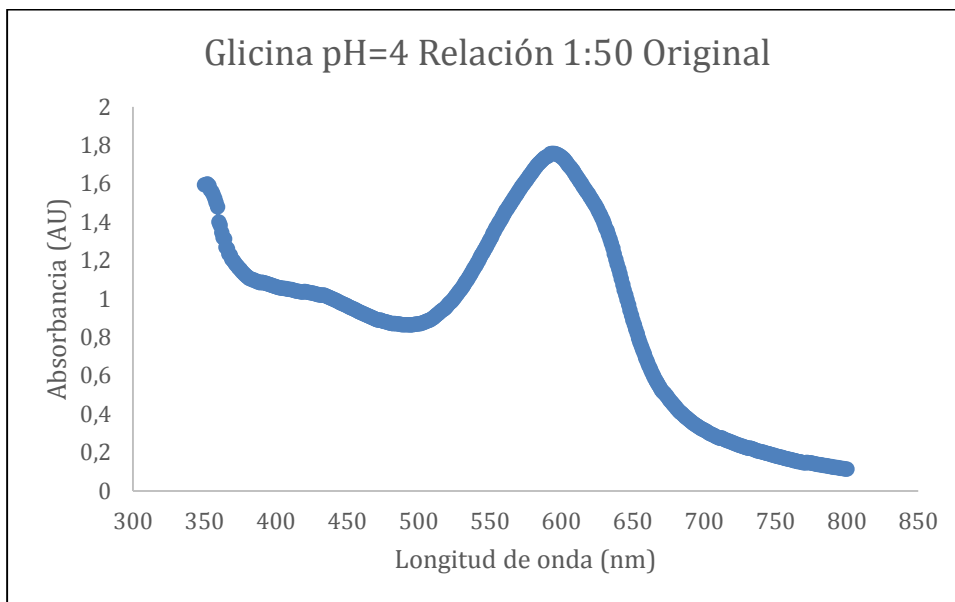
Solución Jagua:Glicina, pH=8, Relación 1:500 y t =96h



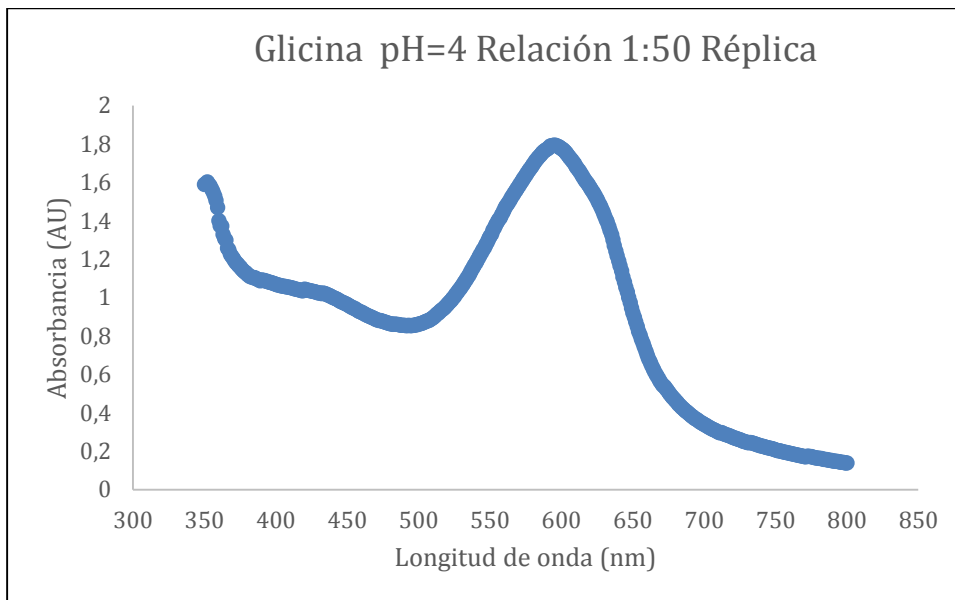
Solución Jagua:Glicina, pH=8, Relación 1:500 y t =96h Réplica



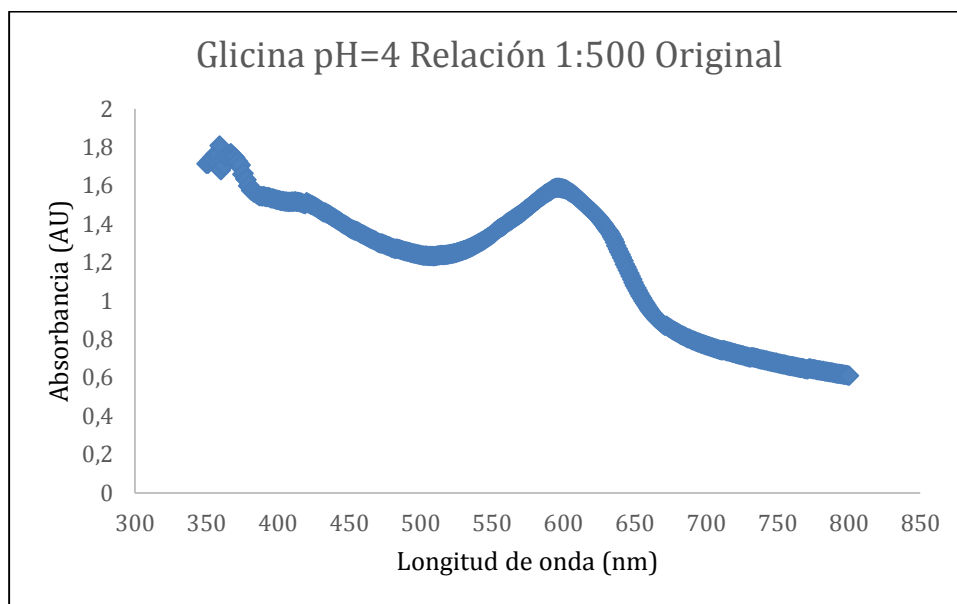
Solución Jagua:Glicina, pH=4, Relación 1:50 y t =168h



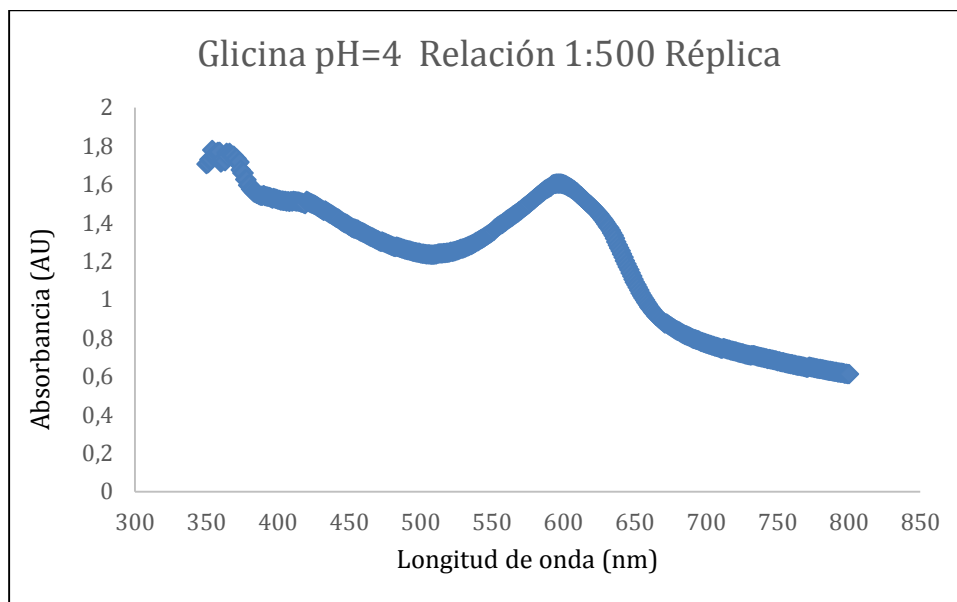
Solución Jagua:Glicina, pH=4, Relación 1:50 y t =168h Réplica



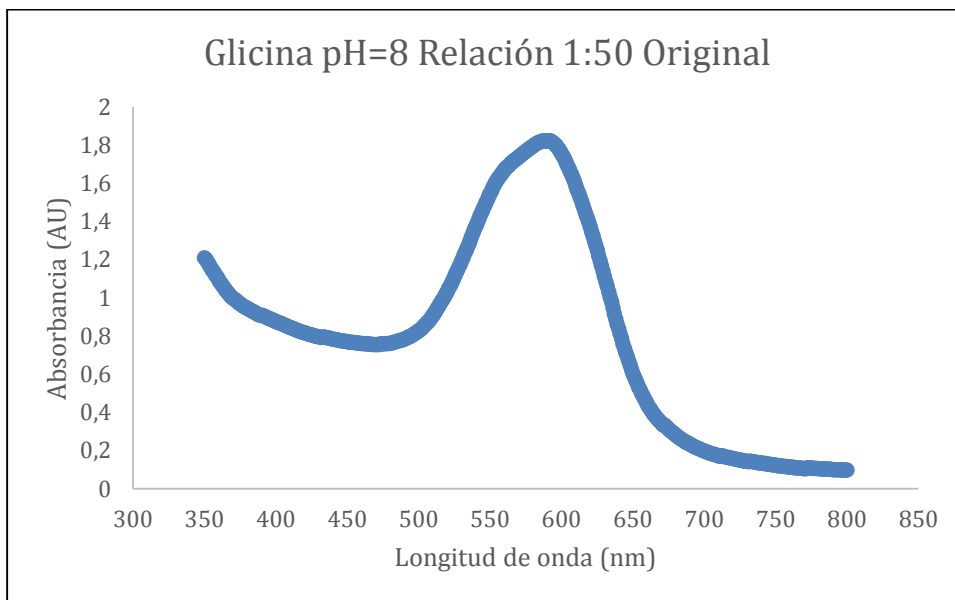
Solución Jagua:Glicina, pH=4, Relación 1:500 y t =168h



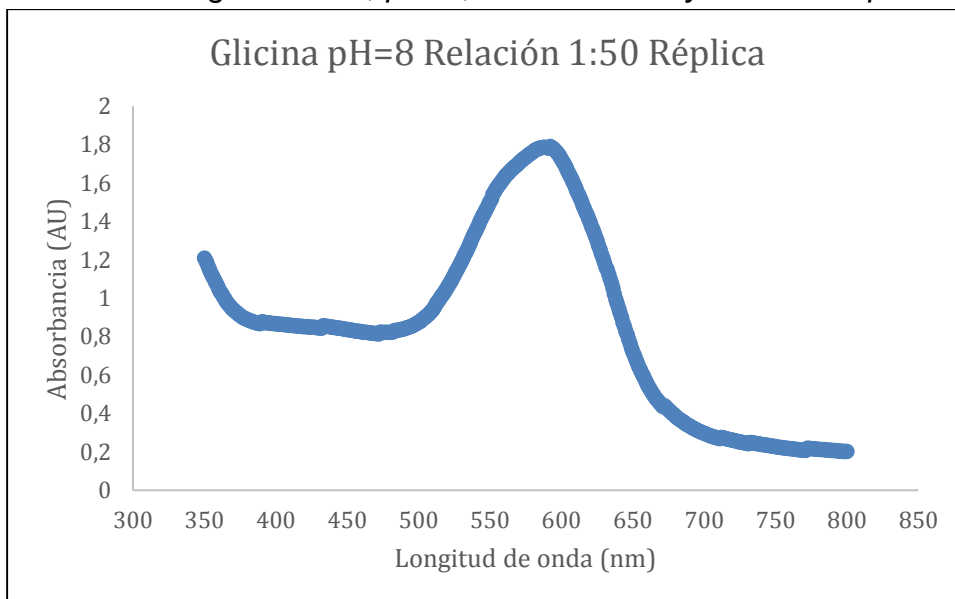
Solución Jagua:Glicina, pH=4, Relación 1:50 y t =168h Réplica



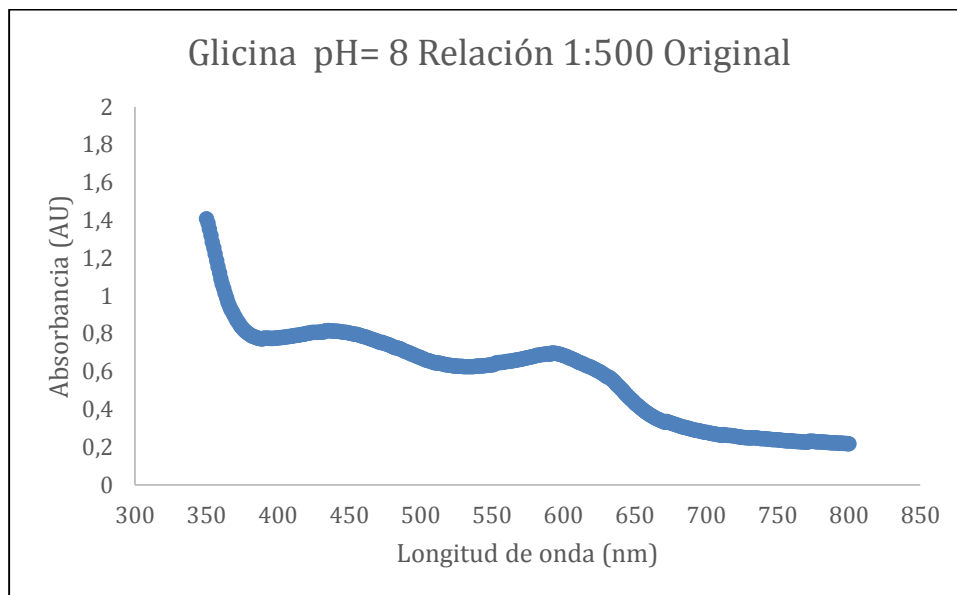
Solución Jagua:Glicina, pH=8, Relación 1:50 y t =168h



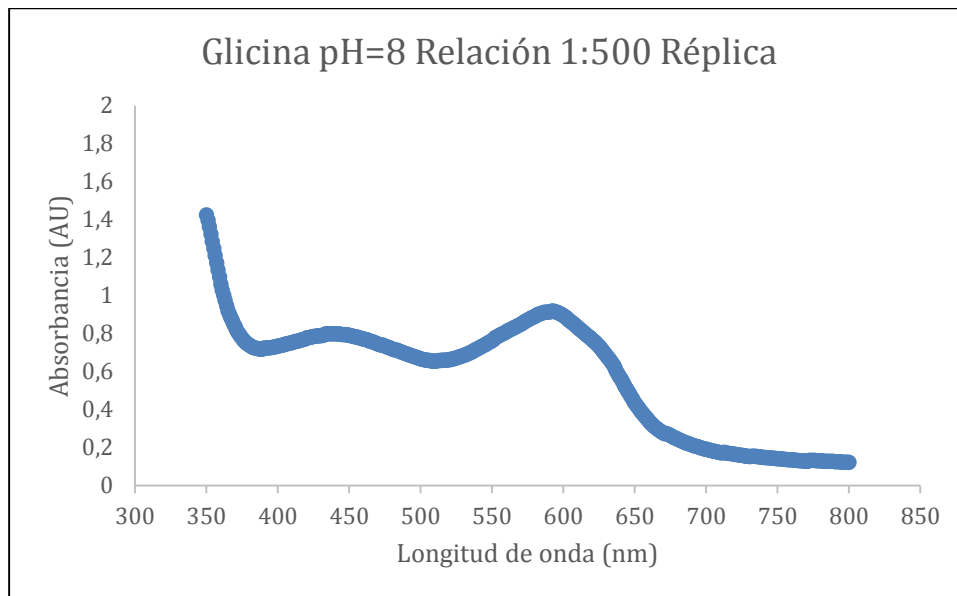
Solución Jagua:Glicina, pH=8, Relación 1:50 y t =168h Réplica



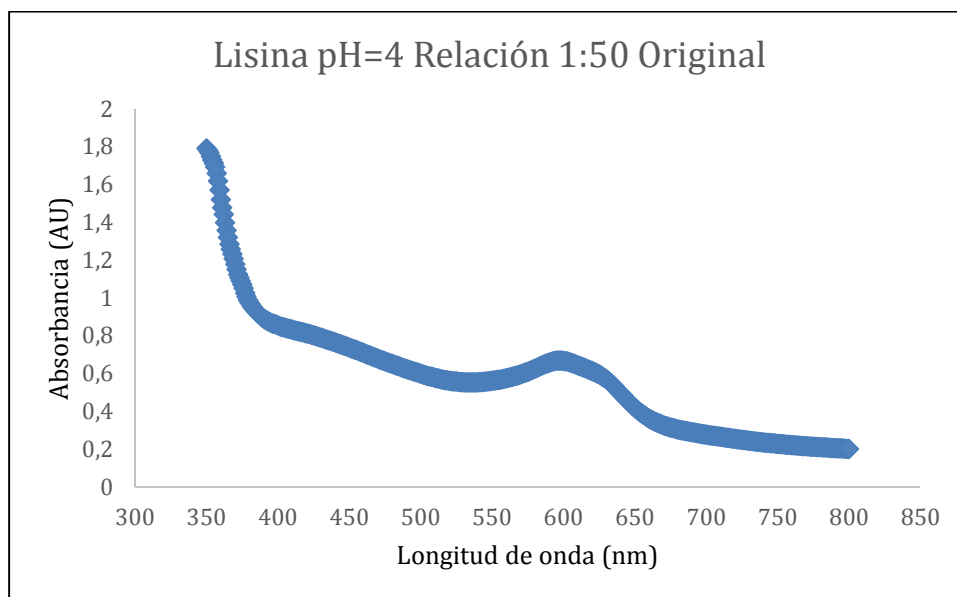
Solución Jagua:Glicina, pH=8, Relación 1:500 y t =168h



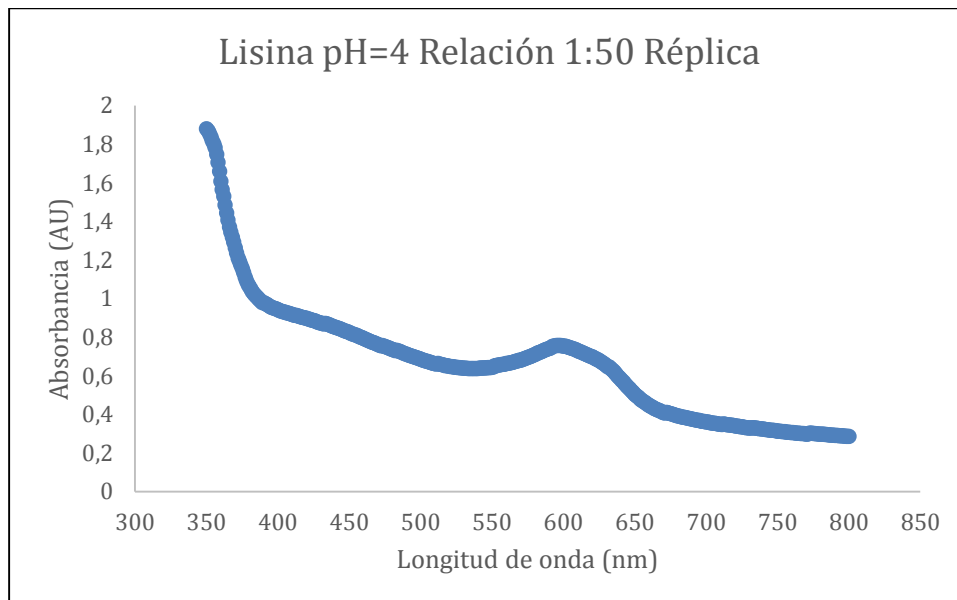
Solución Jagua:Glicina, pH=8, Relación 1:500 y t =168h Réplica



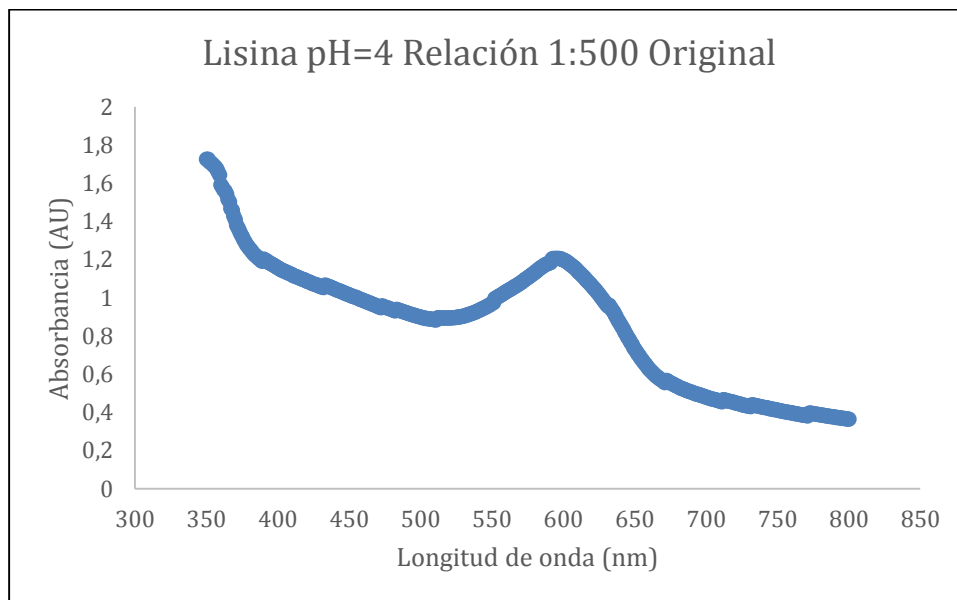
Solución Jagua:Lisina, pH=4, Relación 1:50 y t =0h



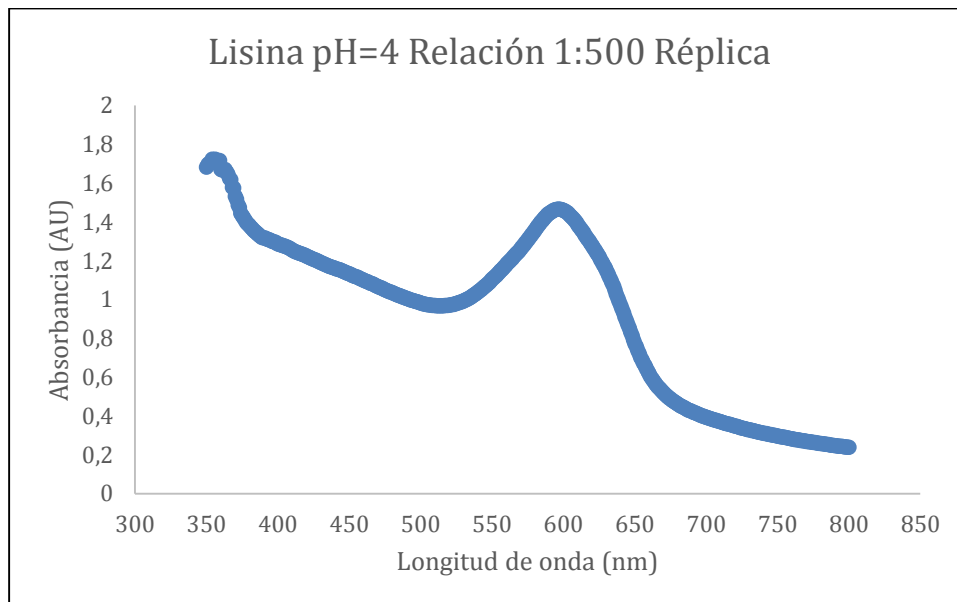
Solución Jagua:Lisina, pH=4, Relación 1:50 y t =0h Réplica



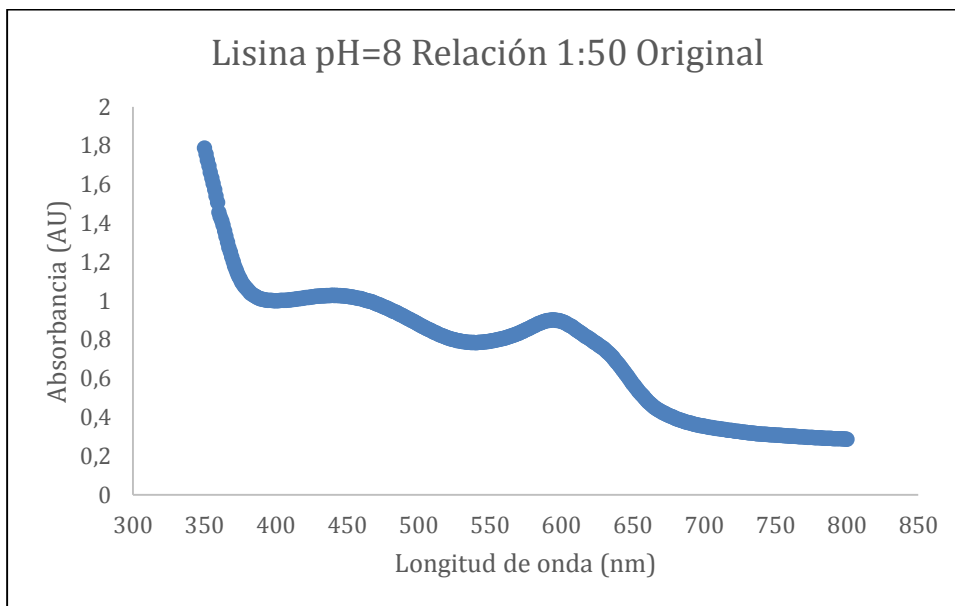
Solución Jagua:Lisina, pH=4, Relación 1:500 y t =0h



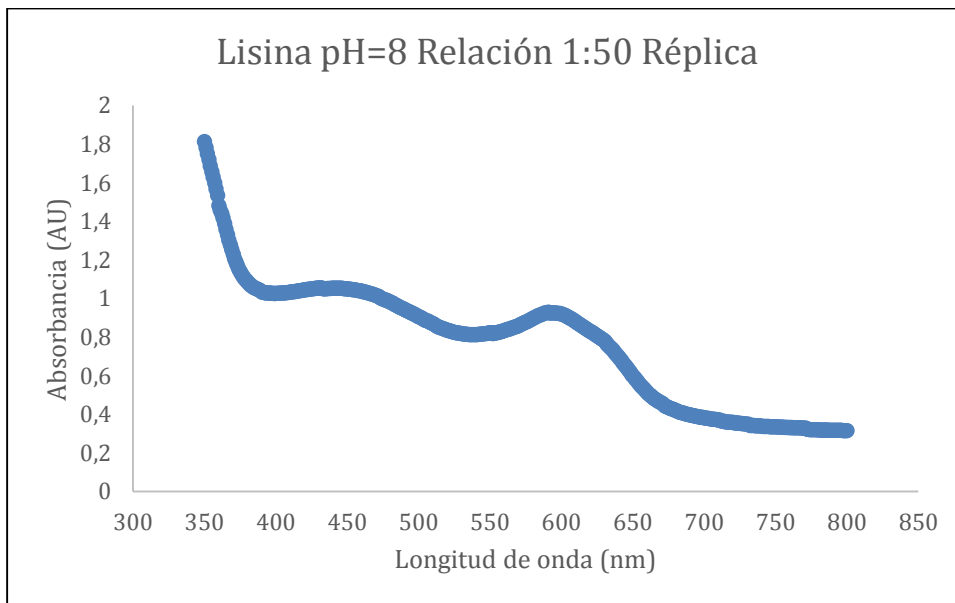
Solución Jagua:Lisina, pH=4, Relación 1:500 y t =0h Réplica



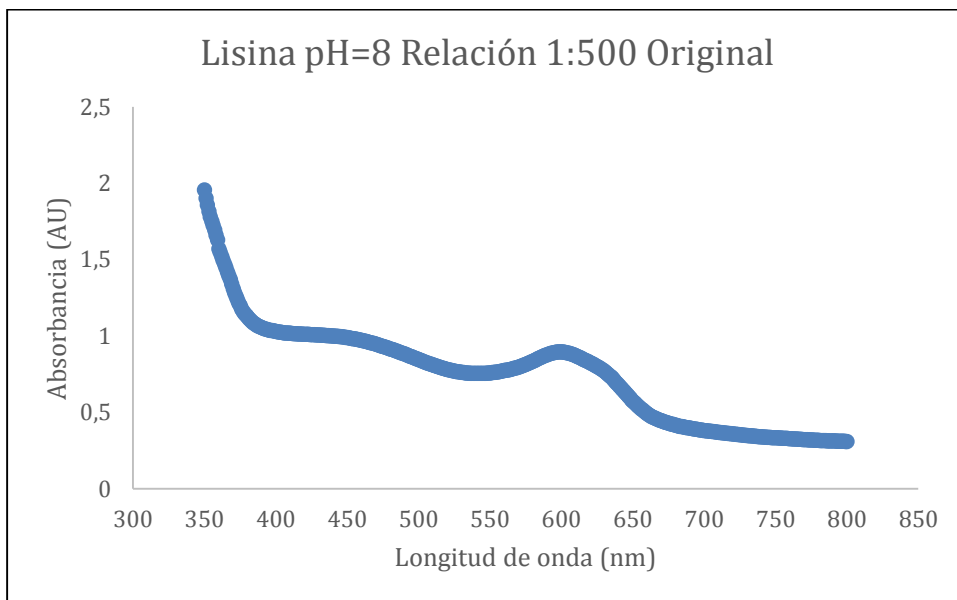
Solución Jagua:Lisina, pH=8, Relación 1:50 y t =0h.



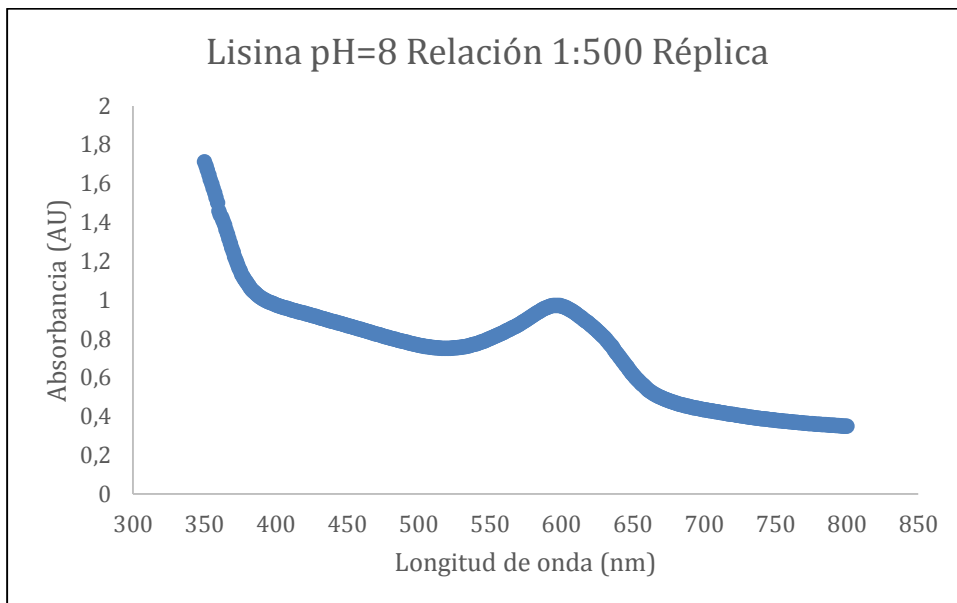
Solución Jagua:Lisina, pH=8, Relación 1:50 y t =0h Réplica



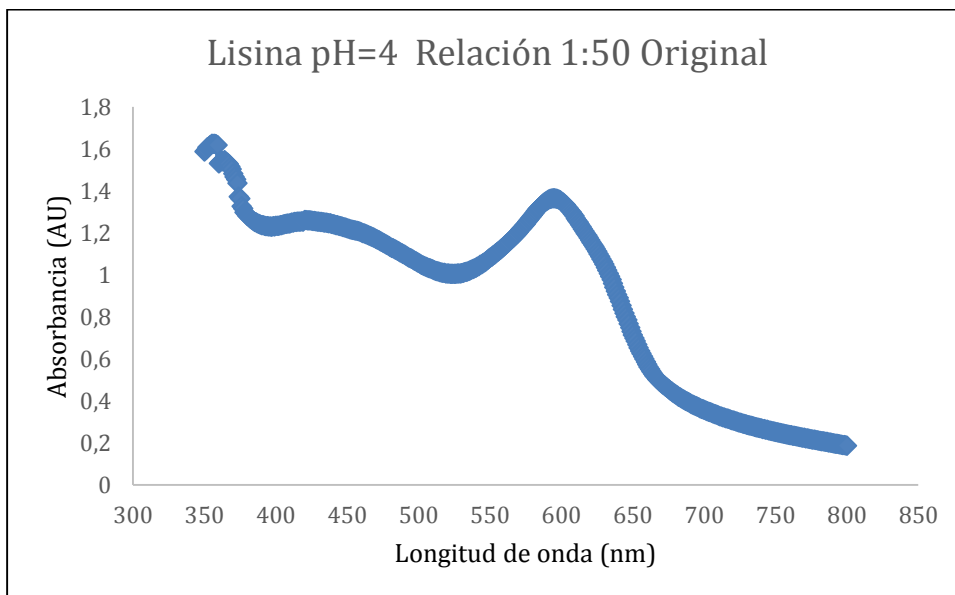
Solución Jagua:Lisina, pH=4, Relación 1:500 y t =0h



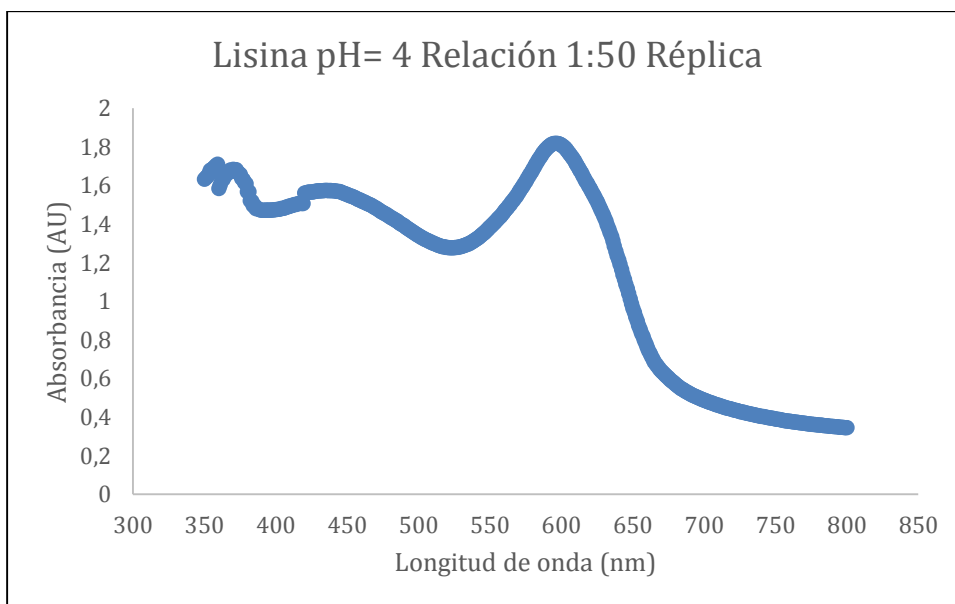
Solución Jagua:Lisina, pH=4, Relación 1:500 y t =0h Réplica



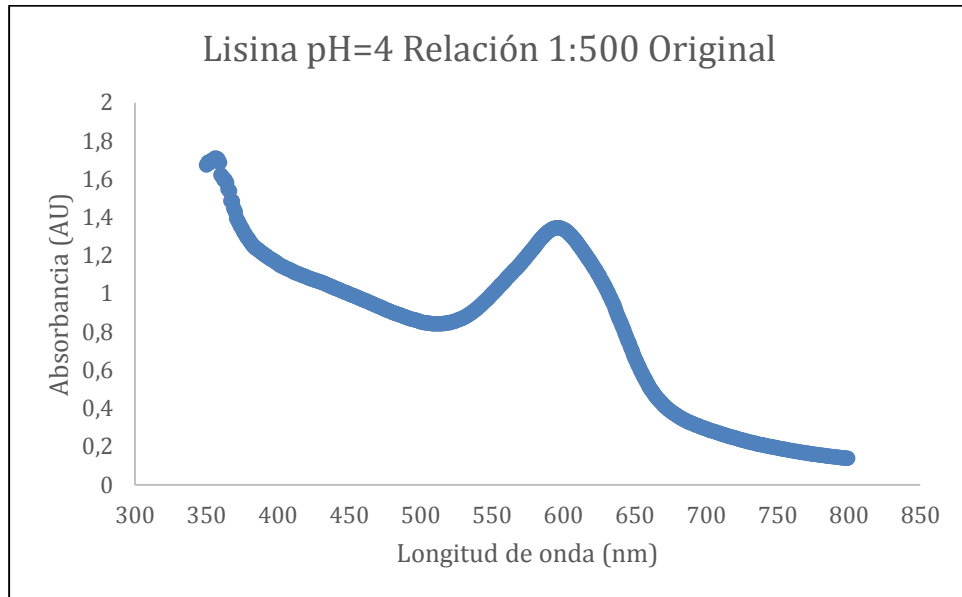
Solución Jagua:Lisina, pH=4, Relación 1:50 y t =96h



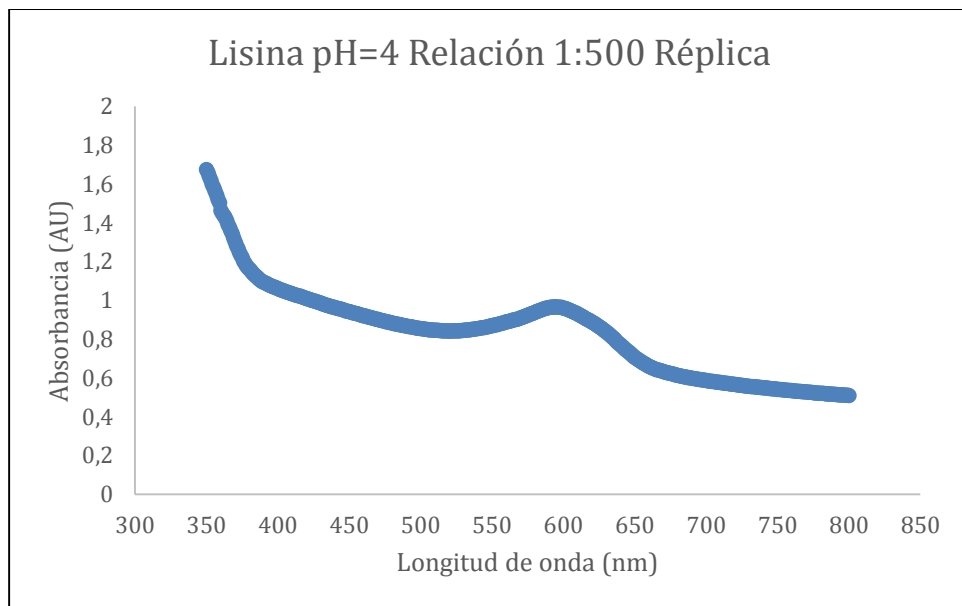
Solución Jagua:Lisina, pH=4, Relación 1:50 y t =96h Réplica



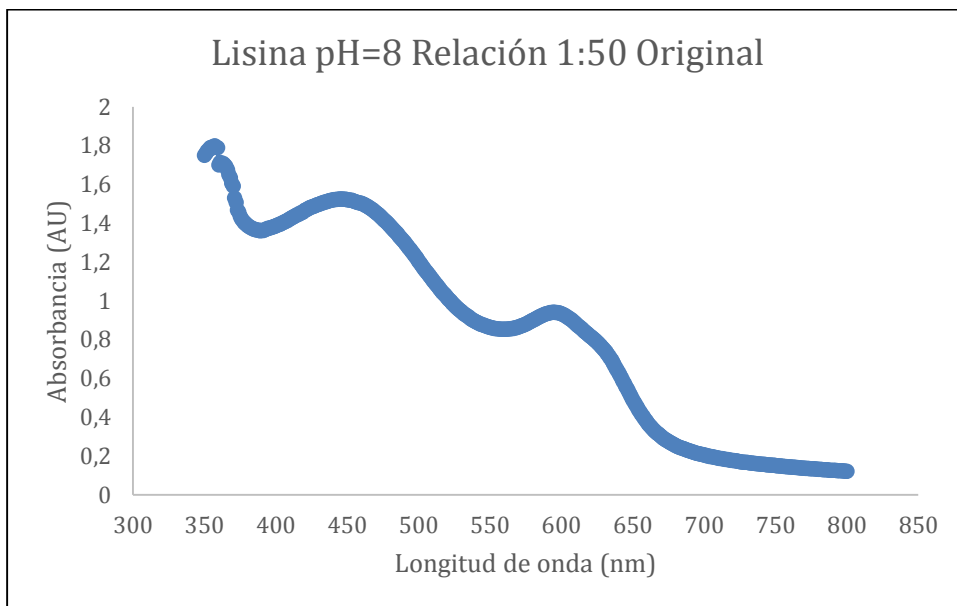
Solución Jagua:Lisina, pH=4, Relación 1:500 y t =96h



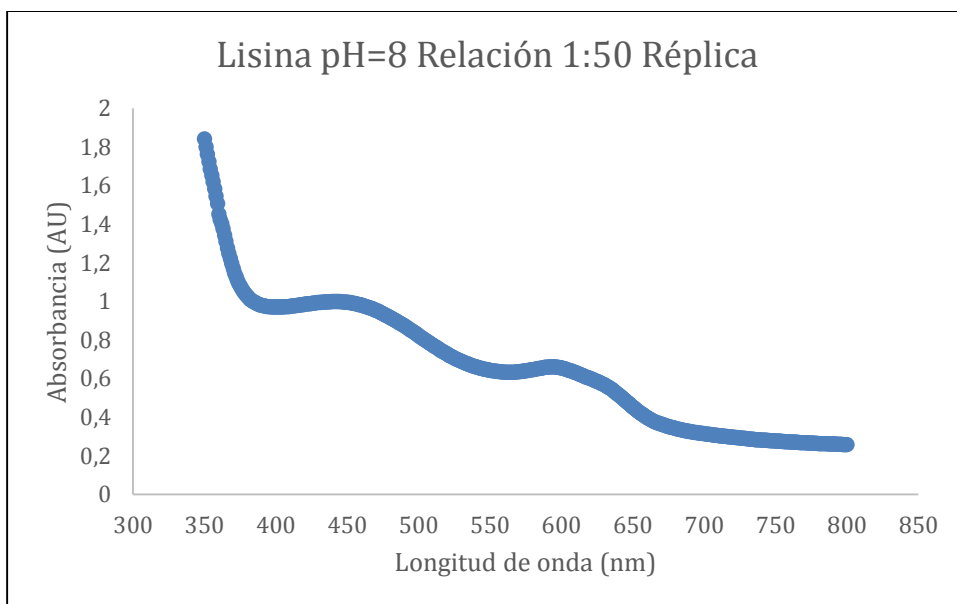
Solución Jagua:Lisina, pH=4, Relación 1:500 y t =96h Réplica



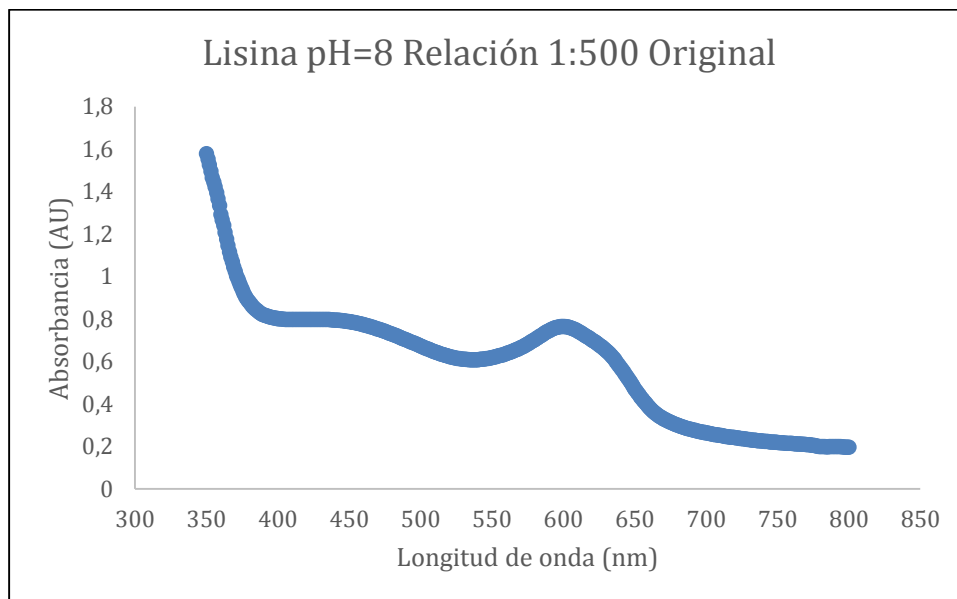
Solución Jagua:Lisina, pH=8, Relación 1:50 y t =96h



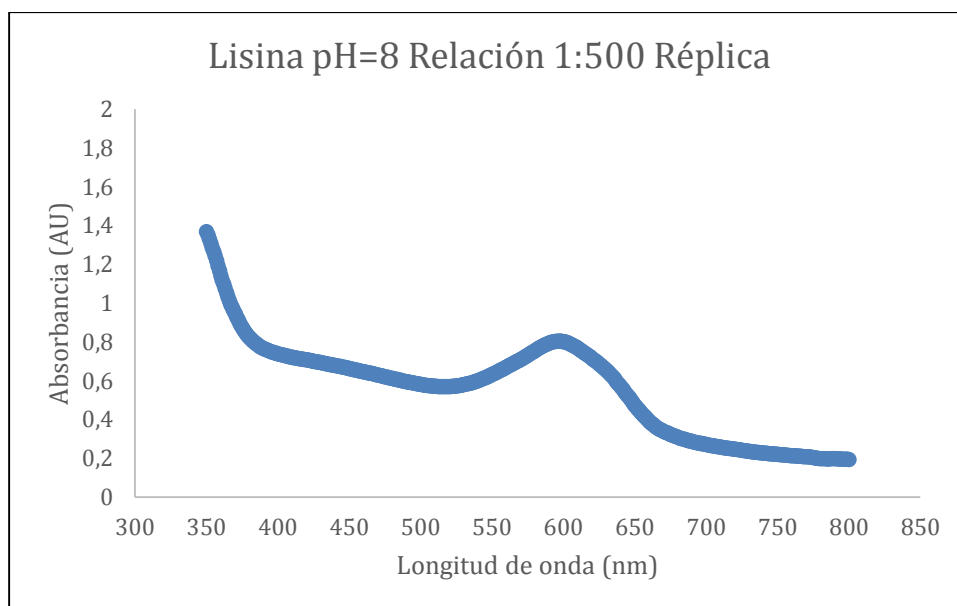
Solución Jagua:Lisina, pH=8, Relación 1:50 y t =96h Réplica



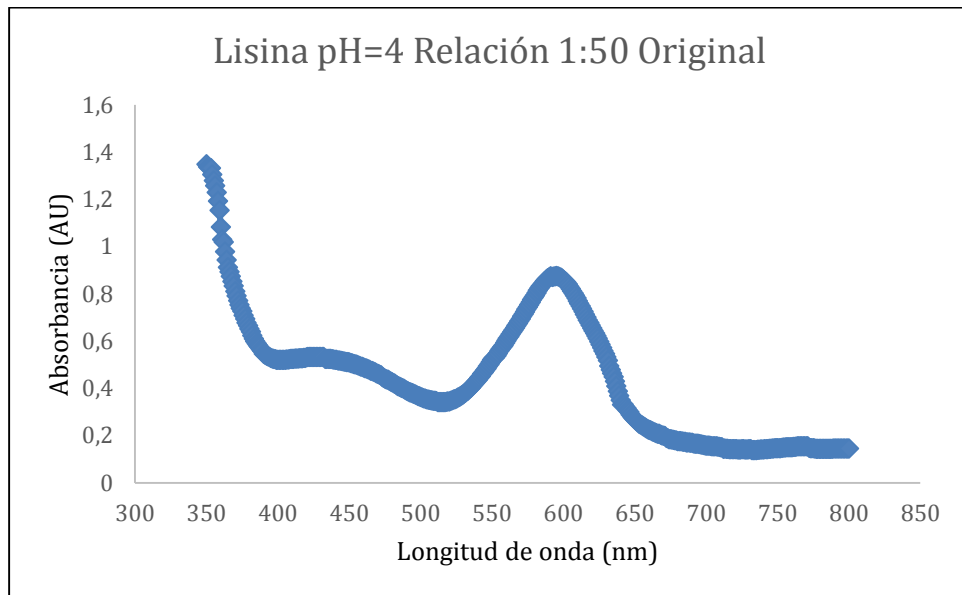
Solución Jagua:Lisina, pH=8, Relación 1:500 y t =96h



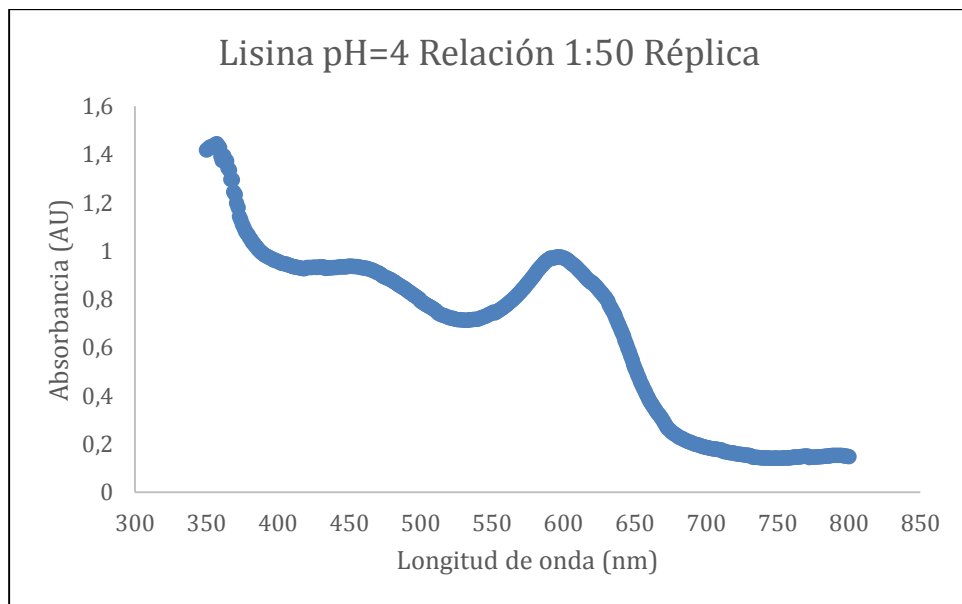
Solución Jagua:Lisina, pH=8, Relación 1:500 y t =96h Réplica



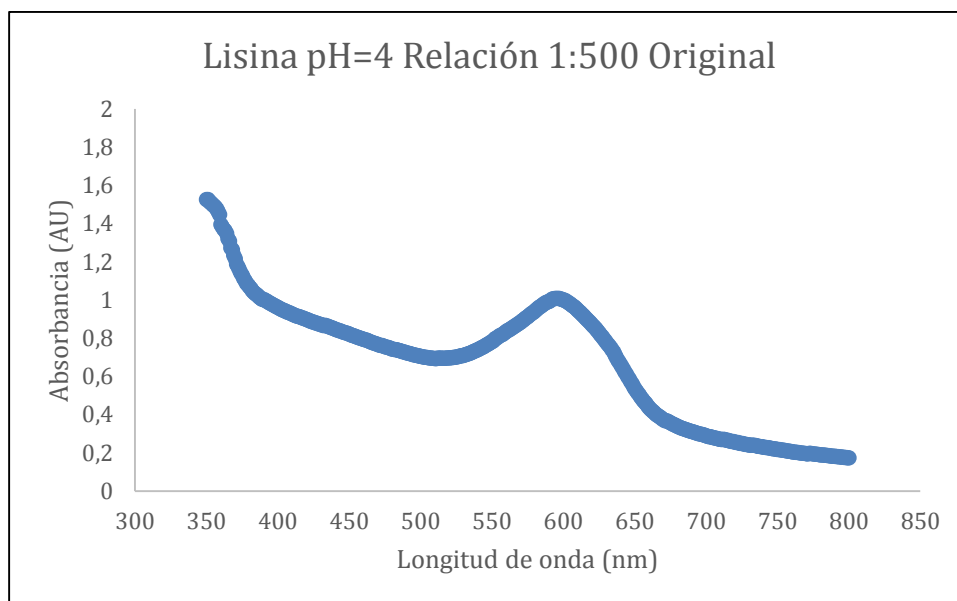
Solución Jagua:Lisina, pH=4, Relación 1:50 y t =168h



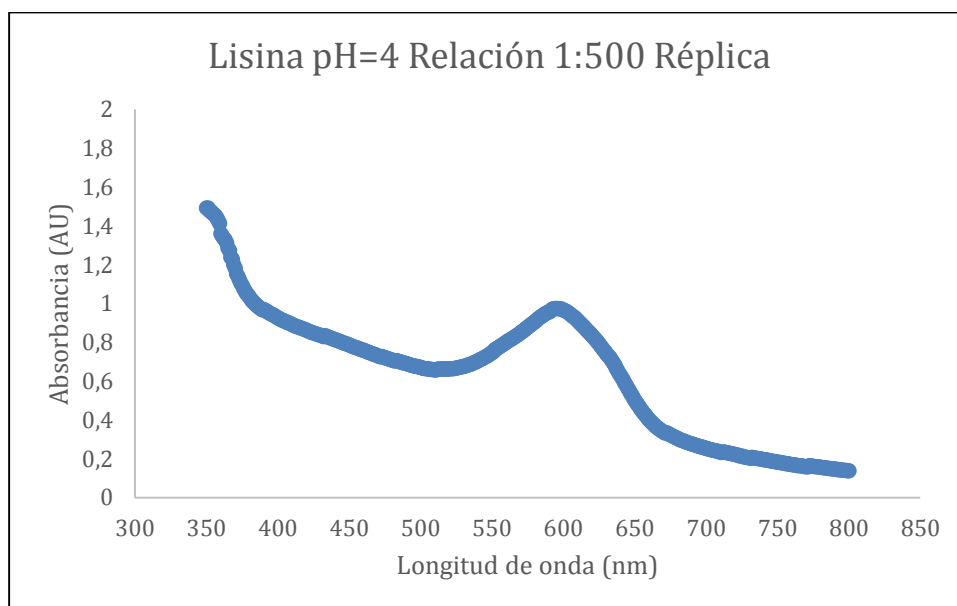
Solución Jagua:Lisina, pH=4, Relación 1:50 y t =168h Réplica



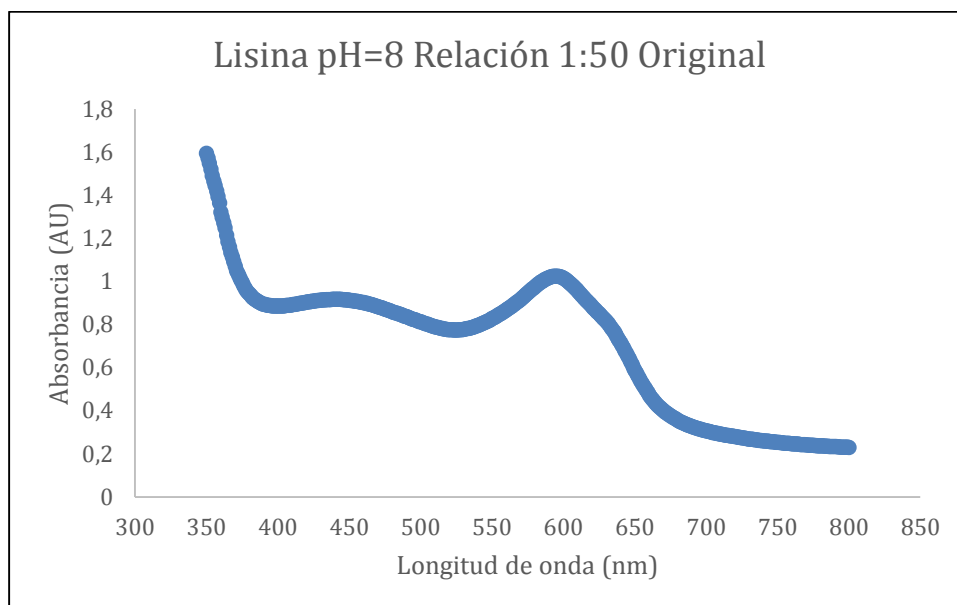
Solución Jagua:Lisina, pH=4, Relación 1:500 y t =168h



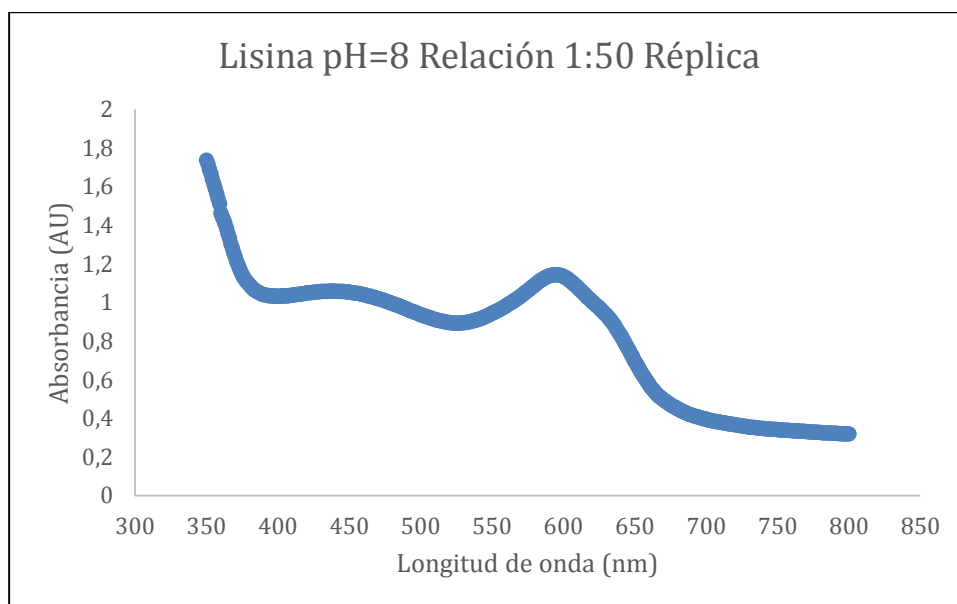
Solución Jagua:Lisina, pH=4, Relación 1:500 y t =168h Réplica



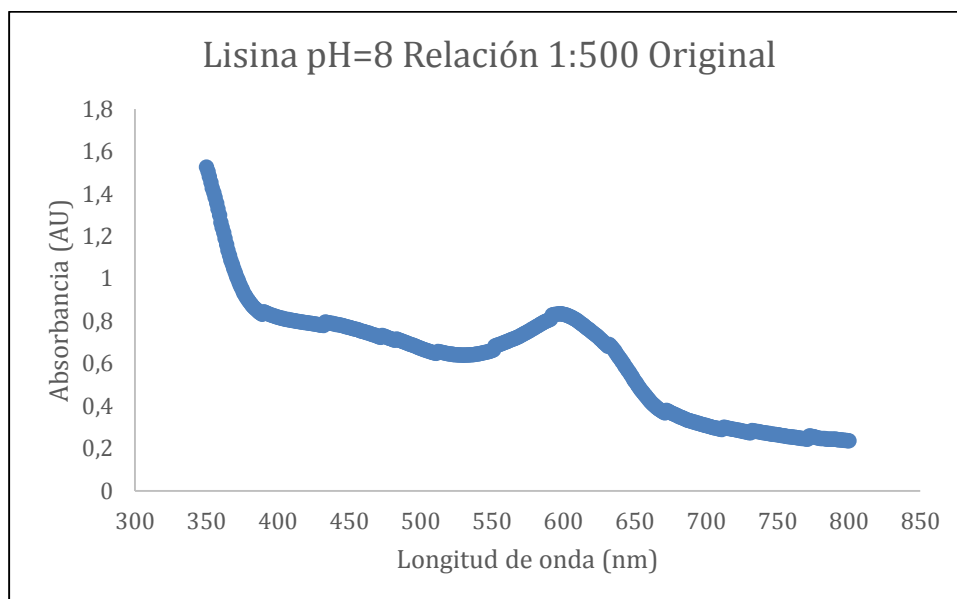
Solución Jagua:Lisina, pH=8, Relación 1:50 y t =168h



Solución Jagua:Lisina, pH=8, Relación 1:50 y t =168h Réplica



Solución Jagua:Lisina, pH=8, Relación 1:500 y t =168h



Solución Jagua:Lisina, pH=8, Relación 1:500 y t =168h Réplica

