

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



EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DE ANTOCIANINAS PRESENTES EN LOS FRUTOS DE *Hesperomeles escalloniifolia* Schldt (CAPACHU), *Berberis cummutata* Eichler (HUANCACHU), *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (CHEQCHE) Y *Vaccinium floribundum* Kunth (ALAYBILÍ) FRENTE AL pH Y TEMPERATURA.

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO AGROINDUSTRIAL

AUTOR : Bach. ARONI HUAMÁN, Jimmy
ASESOR : Ing. MSc. LIGARDA SAMANEZ, Carlos Alberto
CO-ASESOR : Ing. MSc. CHOQUE QUISPE, David

ANDAHUAYLAS – PERÚ

2013

TESIS FINANCIADO POR LA DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN DE LA UNAJMA

DEDICATORIA

*A **Dios** quién supo guiarme por el buen camino y por darme las fuerzas para alcanzar este sueño hoy hecho realidad, a mis queridos padres **Lorenzo y Margarita**, quienes me brindaron el apoyo incondicional para lograr mis metas y a quienes debo todo lo que soy hoy y a mis hermanos por su comprensión y la motivación que me dieron.*

Jimmy.

PRESENTACIÓN

El presente trabajo de investigación contempla el estudio de la estabilidad de las antocianinas presentes en los frutos de capachu, huancachu, cheqche y alaybilí a diferentes valores de temperaturas (20, 30 y 40 °C) y pH (3; 4 y 5) en un tiempo de 30 días utilizando espectrofotometría ultravioleta – visible, en la investigación se realizó también la identificación de las antocianidinas presentes en los frutos mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) y cuantificación del contenido total de antocianinas mediante el método del pH diferencial, la estabilidad de las antocianinas se evalúa en función a la variación de las absorbancias (nm) en los 30 días, teniendo en cuenta que los factores que influyen directamente en la estabilidad de las antocianinas como son pH y temperatura, sin embargo existen también otros factores como disolvente, presencia de oxígeno, así como la interacción con otros componentes en los alimentos como ácido ascórbico, iones metálicos, azúcares y co-pigmentos que influyen con menor efecto.

La investigación presenta como objetivo general evaluar la estabilidad de antocianinas presentes en los frutos de capachu, huancachu, cheqche y alaybilí frente al pH y temperatura.

Mediante la evaluación de la estabilidad de las antocianinas de estos frutos a diferentes temperaturas y pH se determinó si es estable o inestable y bajo que condición es estable y para saber si influyen estos factores se realizó el análisis de varianza (ANOVA) de la variación de la absorbancia (Δ **Abs**) en los 30 días, de esta manera se encontró temperaturas y pH donde la antocianina presente en el fruto es estable, sabiendo estas condiciones nos facilitara incorporar a la industria alimentaria, teniendo en cuenta que las antocianinas son inocuos y libre restricciones.



FACULTAD DE INGENIERIA

APROBACION DEL ASESOR Y CO-ASESOR DE TESIS

Los que suscriben:

Ingeniero en Industrias Alimentarias **CARLOS ALBERTO LIGARDA SAMANEZ**, identificado con CIP. N°105639, Profesor Auxiliar Nombrado e Ingeniero Químico **DAVID CHOQUE QUISPE**, identificado con CIP. N°75470, Profesor Auxiliar Nombrado, adscritos al Departamento Académico de Ingeniería y Tecnología Agroindustrial, por la presente hacen constar:

Que el Informe Final de la Tesis intitulado: "Evaluación de la estabilidad de antocianinas presentes en los frutos de *Hesperomeles escalloniifolia* Schldl (Capachu), *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu), *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) y *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí) frente al pH y temperatura", cuyo autor es el Bachiller en Ingeniería Agroindustrial **JIMMY ARONI HUAMÁN; CUMPLE CON LOS REQUISITOS** exigidos por la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional José María Arguedas; por lo que otorgamos la aprobación de la tesis corregida, declarando apto y autorizando su publicación a fin que pueda iniciar sus gestiones administrativas, conducentes a la expedición y entrega del Título Profesional de Ingeniero Agroindustrial.

Andahuaylas, Diciembre del 2013

Ing. MSc. Carlos Alberto Ligarda Samanez
Asesor de Tesis

Ing. MSc. David Choque Quispe
Co-Asesor de Tesis

Bach. Jimmy Aroni Huamán
Tesisista

iv



FACULTAD DE INGENIERIA

APROBACION DEL JURADO EVALUADOR DE TESIS

Los que suscribimos:

Integrantes del Jurado Evaluador de la Tesis intitulado: "Evaluación de la estabilidad de antocianinas presentes en los frutos de *Hesperomeles escalloniifolia* Schldt (Capachu), *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu), *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) y *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí) frente al pH y temperatura", cuyo autor es el Bachiller en Ingeniería de Agroindustrial, **JIMMY ARONI HUAMÁN; CUMPLE CON LOS REQUISITOS** exigidos por la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional José María Arguedas; por lo que otorgamos la aprobación de la tesis corregida, declarando apto y autorizando su publicación a fin que pueda iniciar sus gestiones administrativas, conducentes a la expedición y entrega del Título Profesional de Ingeniero Agroindustrial.

Andahuaylas, Diciembre del 2013

Ing. Fredy Taipe Pardo
Presidente del Jurado Evaluador

Ing. Denis Hernán Butierrez Martínez
Primer Miembro del Jurado Evaluador

Ing. Henry Palomino Rincón
Segundo Miembro del Jurado Evaluador

v

AGRADECIMIENTO

- ✓ A la Universidad Nacional José María Arguedas – Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial (EPIA) por haberme permitido utilizar los laboratorios para realizar la presente investigación.
- ✓ A mis padres Lorenzo Aroni Garfias y Margarita Huamán Oscoco por ser los autores de mi vida y por el apoyo incondicional que me brindaron para concluir este trabajo.
- ✓ A mis hermanos: Lourdes, Edwin, Marleny, Anne Mary y Alicia por su apoyo incondicional y la motivación constante.
- ✓ Asesor al Ing. MSc. Carlos Alberto Ligarda Samanez por dedicarme su tiempo para darme sus consejos y recomendaciones valiosas durante el desarrollo de la Tesis, considero uno de los mejores docentes de la EPIA.
- ✓ A mis catedráticos: Ing. Fredy Taipe Pardo, Ing. David Juan Ramos Huallpartupa, Ing. MSc. Carlos Alberto Ligarda Samanez, Ing. MSc. Julio Cesar Siches Muñoz, Ing. MSc. David Choque Quispe, Blga. Maribel Surichaqui, Lic. Olinda Suaña Díaz por compartirme sus experiencias en las aulas universitarias y al laboratorista Ing. Juan Carlos Alcarraz Contreras por su apoyo incondicional.
- ✓ A mis amigos y compañeros Lucio, Abel, Oscar, Edgar, Amilson, Nidia, Marianela, Hilmer, Raúl Eles, quienes sin dudar me colaboraron en el desarrollo de la Tesis.
- ✓ A mi patria infinitas gracias, de un hijo que te lleva por siempre en el corazón y por último, gracias a todos aquellos que han influenciado para que ésta meta sea una realidad y que por desgracia, no están de forma constante en mi memoria.

ÍNDICE GENERAL

	PÁGINA
DEDICATORIA.....	ii
PRESENTACIÓN.....	iii
APROBACIÓN DEL ASESOR Y CO-ASESOR DE TESIS.....	iv
APROBACIÓN DEL JURADO EVALUADOR DE TESIS.....	v
AGRADECIMIENTO.....	vi
RESUMEN.....	xxi
ABSTRACT.....	xxiii
I. INTRODUCCIÓN.....	01
1.1 Antecedentes.....	03
1.2 Colorantes naturales.....	12
1.3 Espectrofotometria.....	27
1.4 Descripción de las plantas en estudio.....	28
1.5 Justificación.....	32
1.6 Objetivos.....	34
1.7 Problema.....	34
1.8 Hipotesis.....	35
II. MATERIALES Y MÉTODOS.....	36
2.1 Lugar de ejecución.....	36
2.2 Material de estudio.....	36
2.3 Equipos, materiales y reactivos e insumos de laboratorio.....	37
2.4 Metodología.....	40
III. RESULTADOS.....	59

3.1 Resultados de la identificación de las antocianidinas por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).....	59
3.2 Resultados de la cuantificación del total de antocianinas mediante el método del pH diferencial.....	85
3.3 Resultados de la evaluación de la estabilidad de antocianinas presentes en los frutos Hesperomeles escalloniifolia Schltldl (Capachu), Berberis cummutata Eichler (Huancachu), Berberis humbertiana J.F. Macbr (Cheqche) y Vaccinium floribundum Kunth (Alaybilí).....	89
IV. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	110
4.1 Discusión de resultados de la identificación de las antocianidinas por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).....	110
4.2 Discusión de resultados de la cuantificación del total de antocianinas mediante el método del pH diferencial.....	113
4.3 Discusión de resultados de la evaluación de la estabilidad de antocianinas presentes en los frutos Hesperomeles escalloniifolia Schltldl (Capachu), Berberis cummutata Eichler (Huancachu), Berberis humbertiana J.F. Macbr (Cheqche) y Vaccinium floribundum Kunth (Alaybilí).....	115
V. CONCLUSIONES.....	123
RECOMENDACIONES.....	125
REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA.....	126
ANEXOS.....	131

ÍNDICE DE CUADROS

	PÁGINA
Cuadro 01 : Clasificación de los colorantes naturales según su naturaleza química.....	14
Cuadro 02 : Grupos radicales para los diferentes tipos de antocianinas.....	18
Cuadro 03 : Equipos.....	37
Cuadro 04 : Materiales.....	38
Cuadro 05 : Reactivos e insumos.....	39
Cuadro 06 : Material vegetal.....	39
Cuadro 07 : Preparación de los gradientes.....	45
Cuadro 08 : Condiciones para el análisis de HPLC.....	45
Cuadro 09 : Reporte de resultados de la identificación de las antocianidinas por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).....	46
Cuadro 10 : Reporte de resultados de la cuantificación del total de antocianinas mediante el método del pH diferencial.....	51
Cuadro 11 : Reporte de resultados de la Evaluación de la estabilidad de antocianinas presentes en los frutos <i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltdl (Capachu), <i>Berberis cummutata</i> Eichler (Huancachu), <i>Berberis humbertiana</i> J.F. Macbr (Cheqche) y <i>Vaccinium floribundum</i> Kunth (Alaybilí).....	55
Cuadro 12 : Matriz de diseño experimental.....	56
Cuadro 13 : Resultados del cálculo de la absorbancia de <i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltdl (Capachu).....	85
Cuadro 14 : Resultados del cálculo del contenido de antocianinas de	85

	<i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltdl (Capachu).....	
Cuadro 15	: Resultados del cálculo de la absorbancia de <i>Berberis cummutata</i> Eichler (Huancachu).....	86
Cuadro 16	: Resultados del cálculo del contenido de antocianinas de <i>Berberis cummutata</i> Eichler (Huancachu).....	86
Cuadro 17	: Resultados del cálculo de la absorbancia de <i>Berberis humbertiana</i> J.F. Macbr (Cheqche).....	87
Cuadro 18	: Resultados del cálculo del contenido de antocianinas de <i>Berberis humbertiana</i> J.F. Macbr (Cheqche).....	87
Cuadro 19	: Resultados del cálculo de la absorbancia de <i>Vaccinium floribundum</i> Kunth (Alaybilí).....	88
Cuadro 20	: Resultados del cálculo del contenido de antocianinas de <i>Vaccinium floribundum</i> Kunth (Alaybilí).....	88
Cuadro 21	: Resultados de la lectura de las absorbancia de <i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltdl (Capachu).....	90
Cuadro 22	: Resultados del cálculo de la variación de absorbancia (Δ Abs) y el porcentaje de la variación de la absorbancia en 30 días de <i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltdl (Capachu).....	91
Cuadro 23	: Análisis de varianza (ANOVA) de la variación de absorbancia (Δ Abs) de cada factor temperatura (T °C) y pH, para <i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltdl (Capachu).....	92
Cuadro 24	: Análisis de varianza (ANOVA) de la variación de absorbancia (Δ Abs) de la interacción de los factores temperatura (T °C) y pH, para <i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltdl (Capachu).....	93

Cuadro 25	: Resultados de la lectura de las absorbancia de <i>Berberis cummutata</i> Eichler (Huancachu).....	95
Cuadro 26	: Resultados del cálculo de la variación de absorbancia (Δ Abs) y el porcentaje de la variación de la absorbancia en 30 días de <i>Berberis cummutata</i> Eichler (Huancachu).....	96
Cuadro 27	: Análisis de varianza (ANOVA) de la variación de absorbancia (Δ Abs) de cada factor temperatura (T °C) y pH, para <i>Berberis cummutata</i> Eichler (Huancachu).....	97
Cuadro 28	: Análisis de varianza (ANOVA) de la variación de absorbancia (Δ Abs) de la interacción de los factores temperatura (T °C) y pH, para <i>Berberis cummutata</i> Eichler (Huancachu).....	98
Cuadro 29	: Resultados de la lectura de las absorbancia de <i>Berberis humbertiana</i> J.F. Macbr (Cheqche).....	100
Cuadro 30	: Resultados del cálculo de la variación de absorbancia (Δ Abs) y el porcentaje de la variación de la absorbancia en 30 días de <i>Berberis humbertiana</i> J.F. Macbr (Cheqche).....	101
Cuadro 31	: Análisis de varianza (ANOVA) de la variación de absorbancia (Δ Abs) de cada factor temperatura (T °C) y pH, para <i>Berberis humbertiana</i> J.F. Macbr (Cheqche).....	102
Cuadro 32	: Análisis de varianza (ANOVA) de la variación de absorbancia (Δ Abs) de la interacción de los factores temperatura (T °C) y pH, para <i>Berberis humbertiana</i> J.F. Macbr (Cheqche).....	103
Cuadro 33	: Resultados de la lectura de las absorbancia de <i>Vaccinium floribundum</i> Kunth (Alaybili).....	105

Cuadro 34	: Resultados del cálculo de la variación de absorbancia (Δ Abs) y el porcentaje de la variación de la absorbancia en 30 días de <i>Vaccinium floribundum</i> Kunth (Alaybilí).....	106
Cuadro 35	: Análisis de varianza (ANOVA) de la variación de absorbancia (Δ Abs) de cada factor temperatura (T °C) y pH, para <i>Vaccinium floribundum</i> Kunth (Alaybilí).....	107
Cuadro 36	: Análisis de varianza (ANOVA) de la variación de absorbancia (Δ Abs) de la interacción de los factores temperatura (T °C) y pH, para <i>Vaccinium floribundum</i> Kunth (Alaybilí).....	108

ÍNDICE DE FIGURAS

	PÁGINA
Figura 01 : Mauveína.....	13
Figura 02 : Estructura de la Cianidina.....	17
Figura 03 : Flujograma procedimental para la identificación de las antocianidinas por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).	43
Figura 04 : Flujograma procedimental para la cuantificación del total de antocianinas mediante el método del pH diferencial.....	50
Figura 05 : Flujograma procedimental para la evaluación de la estabilidad de antocianinas presentes en los frutos <i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltidl (Capachu), <i>Berberis cummutata</i> Eichler (Huancachu), <i>Berberis humbertiana</i> J.F. Macbr (Cheqche) y <i>Vaccinium floribundum</i> Kunth (Alaybilí).....	54
Figura 06 : Diagrama de contrastación y variables.....	56
Figura 07 : Cromatograma de <i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltidl (Capachu).....	60
Figura 08 : Primer pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (peonidina).....	60
Figura 09 : Tercer pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (peonidina).....	61
Figura 10 : Cuarto pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (delfinidina).....	62
Figura 11 : Quinto pico del cromatograma y la comparación con el patrón	63

	antocianidina (cianidina).....	
Figura 12	: Sexto pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (delfinidina).....	63
Figura 13	: Séptimo pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (cianidina).....	64
Figura 14	: Octavo pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (petunidina).....	65
Figura 15	: Noveno pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (peonidina).....	66
Figura 16	: Décimo pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (malvidina).....	66
Figura 17	: Cromatograma con picos identificados de <i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltdl (Capachu).....	67
Figura 18	: Cromatograma de <i>Berberis cummutata</i> Eichler (Huancachu).....	68
Figura 19	: Primer pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (cianidina).....	69
Figura 20	: Segundo pico del cromatograma.....	70
Figura 21	: Quinto pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (cianidina).....	71
Figura 22	: Cromatograma con picos identificados de <i>Berberis cummutata</i> Eichler (Huancachu).....	72
Figura 23	: Cromatograma de <i>Berberis humbertiana</i> J.F. Macbr (Cheqche)...	73
Figura 24	: Primer pico del cromatograma y la comparación con el patrón	74

	antocianidina (peonidina).....	
Figura 25	: Segundo pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (cianidina).....	74
Figura 26	: Tercer pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (peonidina).....	75
Figura 27	: Cuarto pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (delfinidina).....	76
Figura 28	: Sexto pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (delfinidina).....	77
Figura 29	: Séptimo pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (cianidina).....	78
Figura 30	: Octavo pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (petunidina).....	78
Figura 31	: Noveno pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (peonidina).....	79
Figura 32	: Décimo pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (malvidina).....	80
Figura 33	: Cromatograma con picos identificados de <i>Berberis humbertiana</i> J.F. Macbr (Cheqche).....	81
Figura 34	: Cromatograma de <i>Vaccinium floribundum</i> Kunth (Alaybilí).....	82
Figura 35	: Tercer pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (cianidina).....	83
Figura 36	: Cromatograma con picos identificados de <i>Vaccinium floribundum</i> Kunth (Alaybilí).....	84

Figura 37	: Comparación de la media de las absorbancias (nm) de los 30 días de tratamientos de <i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltidl (Capachu).....	91
Figura 38	: Efectos principales para la variación de absorbancia (Δ Abs) de <i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltidl (Capachu).....	93
Figura 39	: Interacción de los factores en la variación de absorbancia (Δ Abs) de <i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltidl (Capachu).....	94
Figura 40	: Comparación de la media de las absorbancias (nm) de los 30 días de tratamientos de <i>Berberis cummutata</i> Eichler (Huancachu).....	96
Figura 41	: Efectos principales para la variación de absorbancia (Δ Abs) de <i>Berberis cummutata</i> Eichler (Huancachu).....	98
Figura 42	: Interacción de los factores en la variación de absorbancia (Δ Abs) de <i>Berberis cummutata</i> Eichler (Huancachu).....	99
Figura 43	: Comparación de la media de las absorbancias (nm) de los 30 días de tratamientos de <i>Berberis humbertiana</i> J.F. Macbr (Cheqche)...	101
Figura 44	: Efectos principales para la variación de absorbancia (Δ Abs) de <i>Berberis humbertiana</i> J.F. Macbr (Cheqche).....	103
Figura 45	: Interacción de los factores en la variación de absorbancia (Δ Abs) de <i>Berberis humbertiana</i> J.F. Macbr (Cheqche).....	104
Figura 46	: Comparación de la media de las absorbancias (nm) de los 30 días de tratamientos de <i>Vaccinium floribundum</i> Kunth (Alaybilí).....	106
Figura 47	: Efectos principales para la variación de absorbancia (Δ Abs) de <i>Vaccinium floribundum</i> Kunth (Alaybilí).....	108
Figura 48	: Interacción de los factores en la variación de absorbancia (Δ Abs) de <i>Vaccinium floribundum</i> Kunth (Alaybilí).....	109

ÍNDICE DE ANEXOS

	PÁGINA
ANEXO 01 : Certificado de determinación taxonómica cuatro muestras vegetales herborizadas y montadas.....	132
ANEXO 02 : Constancia de análisis de la identificación de antocianidinas por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).....	134
ANEXO 03 : Reporte del HPLC del análisis de <i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltld (Capachu).....	135
ANEXO 04 : Reporte del HPLC del análisis de <i>Berberis cummutata</i> Eichler (Huancachu).....	136
ANEXO 05 : Reporte del HPLC del análisis de <i>Berberis humbertiana</i> J.F. Macbr (Cheqche).....	137
ANEXO 06 : Reporte del HPLC del análisis de <i>Vaccinium floribundum</i> Kunth (Alaybili).....	138
ANEXO 07 : Fotos de la especie <i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltld (Capachu).....	139
ANEXO 08 : Fotos de la especie <i>Berberis cummutata</i> Eichler (Huancachu).....	140
ANEXO 09 : Fotos de la especie <i>Berberis humbertiana</i> J.F. Macbr (Cheqche)....	141
ANEXO 10 : Fotos de la especie <i>Vaccinium floribundum</i> Kunth (Alaybili).....	142
ANEXO 11 : Fotos de la realización de la parte experimental de la identificación con el HPLC.....	143
ANEXO 12 : Fotos de la realización de la parte experimental de cuantificación y evaluación de las antocianinas presentes en los frutos.....	146
ANEXO 13 : Lecturas de las absorbancias por triplicado del <i>Hesperomeles</i>	148

	<i>escalloniifolia</i> Schltdl (Capachu) durante la evaluación de la estabilidad de las antocianinas.....	
ANEXO 14	: Lecturas de las absorbancias por triplicado del <i>Berberis cummutata</i> Eichler (Huancachu) durante la evaluación de la estabilidad de las antocianinas.....	149
ANEXO 15	: Lecturas de las absorbancias por triplicado del <i>Berberis humbertiana</i> J.F. Macbr (Cheqche) durante la evaluación de la estabilidad de las antocianinas.....	150
ANEXO 16	: Lecturas de las absorbancias por triplicado del <i>Vaccinium floribundum</i> Kunth (Alaybilí) durante la evaluación de la estabilidad de las antocianinas.....	151
ANEXO 17	: Cálculo de absorbancias por triplicado a diferentes longitudes de onda para las cuatro muestras.....	152
ANEXO 18	: Cálculo del contenido total de antocianinas de las cuatro muestras...	153
ANEXO 19	: Tiempos de retención y % de área de los picos del cromatograma de <i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltdl (Capachu).....	154
ANEXO 20	: Tiempos de retención y % de área de los picos del cromatograma de <i>Berberis cummutata</i> Eichler (Huancachu).....	154
ANEXO 21	: Tiempos de retención y % de área de los picos del cromatograma de <i>Berberis humbertiana</i> J.F. Macbr (Cheqche).....	155
ANEXO 22	: Tiempos de retención y % de área de los picos del cromatograma de <i>Vaccinium floribundum</i> Kunth (Alaybilí).....	155

ABREVIATURAS Y UNIDADES

ANOVA	: Análisis de varianza.
nm	: Nanometros.
pH	: Potencial de hidrogeniones.
N	: Normalidad.
l	: Litros.
cm	: Centímetros.
m	: Metros.
mL	: Mililitros.
msnm	: Metros sobre el nivel del mar.
µL	: Microlitro.
KCl	: Cloruro de potasio.
HCl	: Ácido clorhídrico.
g	: Gramos.
Δ Abs	: Variación de absorbancias.
T	: Temperatura (°C).
HPLC	: Cromatografía Líquida de Alta Resolución.
UV	: Ultravioleta visible.
X	: Promedio de 3 repeticiones.
S	: Desviación estándar.
A	: Absorbancia de la muestra.
MW	: Peso molecular de la Cianidina-3-glucosido (449.6 g/mol).
DF	: Factor de dilución.
V	: Volumen final en litros.

- Wt** : Peso de la muestra en g.
- ϵ** : Coeficiente de extinción molar de la Cianidina-3-glucosido ($26900 \text{ L} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$).
- L** : Grosor de la cubeta (1 cm).
- SO₂** : Dióxido de azufre.
- mm** : Milímetros.
- C-18** : Cartucho de carbono 18.
- DAD** : Detector con arreglo de diodos.

RESUMEN

La estabilidad de las antocianinas está influenciado directamente por los factores temperatura y pH, sin embargo existen también otros factores que influyen con menor efecto como: oxígeno, luz, metales y azúcares.

La investigación presentó como objetivo general evaluar la estabilidad de antocianinas presentes en los frutos de Capachu, Huancachu, Cheqche y Alaybilí frente al pH y temperatura, para evaluar la estabilidad se utilizó la metodología propuesta por **Fuentes, 2005**; se identificó las antocianinas de los cuatro frutos mediante la metodología propuesta por **Giusti y Wrolstad, 2001**; para lo cual se utilizó Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC), también se cuantificó las antocianinas totales mediante el método del pH diferencial metodología propuesta por **Giusti y Wrolstad, 2001**. Para evaluar la estabilidad se aplicó un diseño experimental factorial 3^2 , dos factores temperatura y pH cada uno con 3 niveles, valores de temperaturas (20, 30 y 40 °C) y pH (3; 4 y 5) realizándose 9 tratamientos con 3 repeticiones (27 Unidades experimentales), para lo cual se realizó lecturas de absorbancia (nm) utilizando espectrofotómetro UV cada dos días durante 30 días, de estos datos se calculó la variación de la absorbancia (Δ Abs), a partir de este resultado se evaluó la influencia de los factores en la estabilidad. Se utilizó material vegetal de estudio colectado del bosque Kankarhuay ubicado en la localidad de Cotahuacho distrito de Pacucha, provincia de Andahuaylas. Se obtuvo resultados después de la evaluación de la estabilidad de las antocianinas donde se encontró menor variación y mejor estabilidad en el fruto Capachu, a una temperatura de 20 °C y pH de 3, en 30 días varió en 4.53% la absorbancia, Huancachu, a una temperatura de 20 °C y pH de 5, en 30 días varió en 7.22% la absorbancia, Cheqche, a una temperatura de 20 °C y pH de 3, en 30 días varió en 2.58% la absorbancia y Alaybilí, a una temperatura de 30 °C y pH de 5, en 30 días varió en 13.15% la absorbancia, después del análisis de muestras en el HPLC se obtuvieron

cromatogramas de los frutos Capachu y Cheqche identificándose las antocianidinas (delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina), para Huancachu y Alaybilí se identificó solo una antocianidina, cianidina. Cuantificándose el contenido total de antocianinas de Capachu (2026.201 mg/100 g), Huancachu (1271.809 mg/100 g), Cheqche (2306.297 mg/100 g) y Alaybili (319.170 mg/100 g).

Consecuentemente, se demuestra que la interacción de los dos factores estudiados influye significativamente en la estabilidad de las antocianinas presentes en los frutos.

PALABRAS CLAVES: Antocianinas, antocianidinas, estabilidad, HPLC y cromatogramas.

ABSTRACT

The stability of anthocyanins is directly influenced by temperature and pH factors, but there are also other factors that influence less effect as oxygen, light, metals and sugar.

The research presented as a general objective to evaluate the stability of anthocyanins in the fruits of Capachu, Huancachu, Cheqche and Alaybilí versus pH and temperature stability to evaluate the methodology proposed by **Fuentes, 2005** was used; anthocyanidins of the four fruits were identified using the methodology proposed by **Giusti and Wrolstad, 2001**; for which High Performance Liquid Chromatography (HPLC) was used, total anthocyanins were also quantified by the method of pH differential method proposed by **Giusti and Wrolstad, 2001**. 9 treatments carried out with three replications to evaluate the stability of a factorial experimental design 32, two temperature and pH factors each with 3 levels, temperature values (20, 30 and 40 °C) and pH (3; 4 and 5) vaccines (27 experimental units), for which reading of absorbance (nm) was performed using UV spectrophotometer every other day for 30 days, from these data the change in absorbance (Δ Abs) was calculated from this result is evaluated influence of factors in stability. Plant material collected Kankarhuay study forest located in the town of Cotahuacho Pacucha district province of Andahuaylas was used. Results were obtained after evaluating the stability of anthocyanins which less variation and better stability was found in the fruit Capachu, at a temperature of 20 °C and pH 3, in 30 days varied at 4.53 % absorbance, Huancachu, at a temperature of 20 °C and pH 5, in 30 days at 7.22 % ranged absorbance, Cheqche, at a temperature of 20 °C and pH 3, in 30 days varied at 2.58 % absorbance and Alaybilí, at a temperature of 30 °C and pH 5, in 30 days ranged 13.15% in the absorbance, after analysis of samples in the HPLC chromatograms were obtained from the fruits Capachu and Cheqche identifying anthocyanidins (delphinidin, cyanidin, petunidin, peonidin and malvidin) and Huancachu and Alaybilí identified only one anthocyanidin, cyanidin. Quantifying total Capachu

anthocyanin content (2026.201 mg/100 g), Huancachu (1271.809 mg/100 g), Cheqche (2306.297 mg/100 g) and Alaybili (319.170 mg/100 g).

Consequently, it is demonstrated that the interaction of the two factors studied significantly affects the stability of anthocyanins present in the fruits.

KEYWORDS: Anthocyanins, anthocyanidins, stability, HPLC and chromatograms.

I. INTRODUCCIÓN

Actualmente la industria alimentaria se ha visto sujeta a serios cambios debido a que los consumidores están optando por productos más naturales y en especial sin colorantes artificiales, a causa de los efectos perjudiciales para la salud humana. Recientemente la seguridad de los pigmentos sintéticos ha sido cuestionada, conduciendo a la reducción en el número de colorantes permitidos (Feakes, 2003), por este motivo el sector agroindustrial invierte muchos esfuerzos y medios en la búsqueda de nuevas alternativas para utilizar los colorantes naturales como alternativa de consumo de los colorantes sintéticos, (Badui, 1993) manifiesta que el color de los alimentos viene a ser un atributo que tiene mucho peso dentro del juicio del consumidor, este puede llegar a ser determinante para que un producto comestible sea aceptado o rechazado.

Por lo mencionado anteriormente las nuevas tendencias para colorear los alimentos, ha provocado según (Badui, 1993) que en estos últimos años se eliminen del mercado los colorantes rojos sintéticos por considerarlos tóxicos; ocasionando que se incremente la demanda de pigmentos naturales principalmente en los países desarrollados. El mercado de colorantes naturales va en aumento, esto se debe principalmente a la percepción del consumidor que "lo natural es mejor" (Pszczola, 1998).

Entre los pigmentos naturales de interés para la industria alimentaria, están las antocianinas y entre los frutos que se estudia en la presente investigación presentan las características similares a las plantas que tienen en su composición antocianinas, dichos frutos de estudio son ***Hesperomeles escalloniifolia* Schldl** (Capachu), ***Berberis cummutata* Eichler** (Huancachu), ***Berberis humbertiana* J.F. Macbr** (Cheqche) y ***Vaccinium floribundum* Kunth** (Alaybili), las cuales pueden ser usadas para la extracción de dichos pigmentos y posteriormente ser utilizados como aditivos en la industria alimentaria o farmacéutica.

Las antocianinas son colorantes permitidos por la Comunidad Económica Europea y por la administración de alimentos, medicamentos y cosméticos de Estados Unidos, estos compuestos proporcionan un amplio espectro de beneficios a la salud, debido a su capacidad antioxidante presentan la propiedad de prevenir y combatir enfermedades del corazón y varias formas de cáncer, por ser colorantes naturales no requieren certificación (Pszczola, 1998), con este trabajo se pretende dar a conocer una alternativa de uso como colorante natural a las antocianinas por que presentan tonalidades similares a los colorantes artificiales: Rojo N° 40, 3 y 2.

En la actualidad por falta de conocimiento de la importancia del uso de colorantes naturales que tienen estos frutos se viene desaprovechando este recurso potencial en esta parte del país, debido a que aún no han sido sujeto a investigaciones que demuestren su potencial en colorantes naturales como las antocianinas, por lo tanto, dentro de sus objetivos en el presente trabajo de investigación se estableció evaluar la estabilidad de las antocianinas presentes en los cuatro frutos a valores de temperaturas (20, 30 y 40 °C) y pH (3; 4 y 5), identificar los diferentes tipos de antocianidinas y cuantificar el contenido total de antocianinas presentes en los cuatro frutos estudiados y a partir de esta investigación se puede plantear una alternativa que puede ayudar a un mayor aprovechamiento de estos frutos, beneficiándose así los pobladores de esa parte del país donde se desarrollan dichos frutos y finalmente es un aporte importante para la industria alimentaria, debido a que los colorantes antociánicos pueden ser un sustituto eficaz de los colorantes sintéticos: Rojo N° 40, 3 y 2, brindando al consumidor final mayor seguridad en los productos procesados que consumen.

Según Garzón, (2008) muchos investigadores tienen interés en estos pigmentos antociánicos gracias a sus posibles efectos terapéuticos y benéficos, dentro de los cuales se encuentra los efectos anticancerígenos, antitumorales, antidiabéticos, antioxidante, etc. Estas propiedades han

permitido abrir una nueva perspectiva para la obtención de productos coloreados con valor agregado para el consumo humano.

1.1. ANTECEDENTES

- ✓ **Fuentes, (2005).** En su investigación “Extracción, cuantificación y estabilidad de colorantes naturales presentes en los frutos de *Prunus capuli* Cav. (Cereza), *Rubus urticaefolius* Poir. (Mora) y *Sambucus canadensis* L. (Saúco); como alternativas naturales de consumo de los colorantes artificiales Rojo N° 40, Rojo N° 3 Y Rojo N° 2, en bebidas en el rango de pH: 3, 4 y 5”, concluye en lo siguiente que únicamente los pigmentos presentes en los frutos de Cereza pH 4 y 5, Mora pH 5 y Saúco pH 5, presentan las características para ser utilizados como alternativas naturales del colorante artificial Rojo N° 2 en bebidas comprendidas en el rango de pH 4 y 5.

- ✓ **Peguero, (2007).** En su investigación “Perfil de antocianinas de tres variedades de frijol rojo (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivadas en Honduras”, concluye que los modelos cromatográficos más las herramientas del HPLC Agilent® serie 1100 se determinó un compuesto adicional (petunidina) que mostró máxima absorbancia en el rango visible a 524 nm y 272 nm en el rango ultravioleta, tres tipos de antocianinas (perlagonídicas, cianídicas y petunídicas) predominaron en la variedad Amadeus-77, mientras que para las variedades Seda y Dorado se identificaron cinco (pelargonídicas, cianídicas, petunídicas, malvinídicas y peonídicas). También con este estudio se establecieron las bases para determinar las razones químicas del por qué el color del frijol se oscurece en almacén, con la finalidad posterior de desarrollar mecanismos para mantenerlo.

- ✓ **Rodríguez, (2008).** En su investigación **“Identificación y cuantificación de colorantes artificiales en refrescos en polvo elaborados y/o distribuidos en Guatemala”**, Concluye que los colorantes utilizados para la elaboración de los refrescos en polvo en estudio si se encuentran identificados en la etiqueta, y los mismos fueron utilizados en las cantidades permitidas por las normas.

- ✓ **Cuevas, et al., (2008).** En su investigación **“Análisis y caracterización de antocianinas en diferentes variedades de maíz (*Zea mays*) Boliviano”**, concluye que la composición de antocianinas presente en los maíces originarios de Bolivia es muy similar a la que presentan algunos mesoamericanos ya descritos en estudios anteriores. Las antocianinas mayoritarias identificadas en los granos de maíz de las variedades estudiadas fueron la cianidina-3-glucósido y la cianidina-3-(6"malonil)-glucósido respectivamente.

Las técnicas de cromatografía en contracorriente y HPLC son herramientas primordiales para la extracción y caracterización de las antocianinas, ya que permiten una purificación y separación a gran escala para la ejecución de estudios y análisis posteriores (por ejemplo TEAC, DPPH, estudios de biodisponibilidad etc.); además de que permiten enriquecer y concentrar componentes minoritarios para su completa elucidación.

Por la naturaleza química de las antocianinas identificadas en las variedades de maíz morado estudiados, su uso potencial sería como fuente de antioxidantes, más que como colorantes naturales.

- ✓ **Vélez, et al., (2008).** En su investigación **“Cuantificación de antocianinas en el maíz morado (*Zea Mays L.*), tratados con ultrasonido”**, concluye que el pH influye de una

manera altamente significativa ($p = 0,00$) en el contenido de antocianinas; en el intervalo de pH 4.0 – 4.5, se obtuvo mayor concentración (147.812 – 219.125 mg/mL).

La mayor cantidad de antocianinas corresponde al extracto acuoso de pH 4.5 con un tiempo ultrasónico de 7 minutos (219.1250 mg/mL), seguido del extracto acuoso de pH 4 con un tiempo ultrasónico de 3 minutos (212.9660 mg/mL).

La menor cantidad de antocianinas corresponde al extracto acuoso de pH 3.5 con un tiempo ultrasónico de 10 minutos (36.0453 mg/mL), seguido del extracto acuoso de pH 3.5 con un tiempo ultrasónico de 7 minutos (45.4460 mg/mL).

Los cambios observados en el contenido de antocianinas están influenciados por la energía cinética que adquieren las moléculas, a consecuencia del tratamiento con ultrasonido.

- ✓ **Aguilera, (2009).** En su investigación **“Caracterización y estabilidad de antocianinas de higo, variedad Mission”**, concluye que las antocianinas del higo azul-morado (*Ficus carica*) variedad Mission extraídas del tejido epidérmico liofilizado usando metanol acidificado, hidrolizadas con HCl y purificadas usando un cartucho C-18 y el contenido de antocianinas monoméricas, fue determinado por el método de diferencial de pH, fue 162 mg (100 g de tejido epidermal (base cianidina-glucósido)). Por medio de HPLC se separó e identificó la cianidina como única antocianina presente en el higo. Se demostró que la mayor estabilidad de antocianinas extraídas de higo Mission se presenta a un pH de 3 a 4 °C y en oscuridad, conservándose durante 14 días.

- ✓ **Pastrana, et al., (2009).** En su investigación **“Identificación y cuantificación de antocianinas en uvas muscadinas por cromatografía líquida y espectrometría de**

masas”, concluye que el contenido de antocianinas totales que fue determinado mediante un método de diferencial de pH y varió de 31 a 75 mg/100g de fruta fresca en las uvas púrpuras y de 0.4 a 1.3 en las uvas de color bronce y las antocianinas individuales fueron analizadas mediante HPLC y su identidad confirmada mediante técnicas de HPLC-MS y la Delfinidina-3,5-diglucósido fue la antocianina más abundante (cerca del 46% del contenido total de antocianinas) y fue encontrada en las pieles de todas las frutas, en las semillas de 9 de los cultivares, y en las pulpas de 3. Petunidina-3,5-diglucósido (~23%) y malvidina-3,5-diglucósido (~20%) fueron las siguientes en concentración, pero solo fueron encontradas en las pieles de 8 y las semillas de 5 de los cultivares estudiados. Cianidina-3,5-diglucósido (~6%), peonidina-3,5-diglucósido (~3%) y petunidina-3- monoglucósido (~1%) fueron también detectadas en las pieles de las frutas de piel púrpura. En esta investigación se reporta por primera vez la presencia de petunidina-3-monoglucósido en uvas muscadinas. El contenido de antocianinas y la suma de antocianinas individuales presentaron una correlación alta ($R = 0.98$). El promedio del contenido de antocianinas totales reportado en esta investigación fue más bajo que los publicados para uvas de tipo europeo y otras uvas americanas de piel roja y de otras frutas comunes. Sin embargo, las uvas muscadinas de piel púrpura presentaron niveles de antocianinas que pueden ser consideradas de importancia nutracéutica.

- ✓ **Leyva, (2009).** En su investigación “**Determinación de antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante en licores y fruto de mora**”, concluye que en el fruto maduro de zarzamora (*Rubus spp*) de la región de Xico Veracruz tiene un contenido de antocianinas monoméricas de 183.63 mg de cianidina 3-glucósido/100 g de fruto fresco y

el intervalo de antocianinas monoméricas de los licores de mora se encuentra entre 3.56 y 76.95 de cianidina 3-glucósido/L.

- ✓ **Del Carpio, (2009).** En su investigación “**Caracterización de las antocianinas de los frutos de *Berberis boliviana* Lechler**”, concluye que realizando un análisis preliminar del pigmento se determinó la presencia de antocianinas, cuyo contenido fue determinado por el método del pH diferencial, siendo de 7 g/100 g en el tejido separado de las semillas del fruto seco y el análisis por HPLC-PDA (Cromatografía Líquida de Alta Resolución, con detector con arreglo de fotodiodos) de la muestra hidrolizada mostro la presencia de 5 aglicones: delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina, las cuales fueron identificadas por comparación de los picos del cromatograma obtenido al correr simultáneamente una muestra del pigmento de los frutos de uva (*Vitis vinífera*). El análisis por HPLC - espectrometría de masas Tandem, confirmo la presencia de 10 picos y los pesos moleculares permitieron conocer las antocianinas presentes en *Berberis boliviana* Lechler, las cuales son: delfinidina-3-glucosido, delfinidina-3-rutinosido, cianidina-3-glucosido, cianidina-3-rutinosido, petunidina-3-glucosido, petunidina-3-rutinosido, peonidina-3-glucosido, peonidina-3-rutinosido, malvidina-3-glucosido y malvidina-3-rutinosido. La petunidina-3-glucosido fue identificada como el principal pigmento, en una concentración de 24.43%, es la primera vez que se establece el perfil de las antocianinas de *Berberis boliviana* Lechler, siendo este último importante, tratándose de una especie silvestre de nuestro país.

- ✓ **Santacruz, (2011).** En su investigación “**Análisis químico de antocianinas en frutos silvestres Colombianos**”, reporta de los análisis realizados en el coral y el motilón, confirmaron la presencia de la antocianina delfinidina-3-rutinósido como compuesto mayoritario, seguido por delfinidina-3-glucósido, cianidina-3-rutinósido y petunidina-3-rutinósido. En estas dos frutas se identificaron las mismas antocianinas, siendo mucho mayor la concentración en el motilón que en el coral. En la mora pequeña se confirmó la presencia de cianidina-3-glucósido como compuesto mayoritario junto con cianidina-3-rutinósido; y en la uva de árbol se identificó la antocianina cianidina-3-glucósido como compuesto mayoritario junto con la antocianina delfinidina-3-glucósido.

En la evaluación la estabilidad de los diferentes extractos frente a variaciones de pH y durante un periodo de almacenamiento de un mes. Se confirmó que el pH es un factor que afecta significativamente el color de los AREs y con base en las medidas de colorimetría triestimulo a diferentes pH (1.5; 3.5; 5.5 y 7,5) se concluyó que el extracto más estable era el de uva de árbol porque se encontraron menores variaciones en el cromatismo con respecto a las otras frutas.

Con estos resultados se comprobó que las frutas estudiadas son una fuente promisorias de pigmentos naturales, siendo más interesantes el motilón y la uva de árbol debido a su contenido de antocianinas, actividad antioxidante y estabilidad del color de los extractos.

- ✓ **Noriega, et al., (2011).** En su investigación “**Extracción, pruebas de estabilidad y análisis químico preliminar de la fracción colorante obtenido a partir del exocarpo del fruto de *Renealmia Alpinia***”, reporta un rendimiento medio de 2.13%, con un promedio de 43 g de fracción colorante por cada 2 kg de exocarpo usado y el perfil cromatográfico a 520 nm demuestra la presencia preponderante de una antocianina.

- ✓ **Aguilera, et al., (2011).** En su investigación **“Propiedades funcionales de las antocianinas”**, concluye que actualmente, los rápidos avances en la tecnología de alimentos y análisis, han permitido la extracción eficiente, procesamiento e identificación de compuestos de antocianinas de varias frutas, vegetales y granos para ser incorporados a la industria de alimentos y bebidas, ya sea como colorantes naturales, alimentos funcionales y suplementos alimenticios. Sin embargo, solamente un pequeño porcentaje de frutas, vegetales y granos conteniendo antocianinas está siendo integrado en la industria de alimentos y bebidas. Una mayor publicidad de los beneficios de las antocianinas a la salud podría incrementar el consumo de estos productos.

- ✓ **Valle, et al., (2011).** En su investigación **“Evaluación de la Estabilidad de Antocianinas durante el Almacenamiento de Zanahoria Púrpura (*Daucus carota*)”**, reporta para evaluar la Estabilidad de Antocianinas durante el almacenamiento de Zanahoria Púrpura (*Daucus carota*) de la variedad *Índigo winter*, fueron almacenadas en 3 diferentes temperaturas; Ambiente, 5 °C y 10 °C. Por un periodo de almacenamiento de 11 días, se ha comparado los mejores resultados de las muestras empacadas; siendo la zanahoria púrpura empacada en Bolsa de Polietileno de Baja Densidad y Almacenada a 5 °C, la que conservó mejor las Antocianinas 97.03%; En comparación de una que no fue empacada y almacena a Temperatura Ambiente, se obtuvo un conservación del 94.03%.

- ✓ **Martínez, et al., (2011).** En su investigación **“Estabilidad de Antocianinas en Jugo y Concentrado de Agraz (*Vaccinium meridionale Sw.*)”**, se reporta en esta investigación se estudió la cinética de la estabilidad térmica y de almacenamiento de las

antocianinas en jugo y concentrado de agraz (*Vaccinium meridionale* Sw.) siguiendo una cinética de primer orden. La degradación de las antocianinas con la temperatura fue modelada adecuadamente con la ecuación de Arrhenius. El efecto del pH en la estabilidad térmica de las antocianinas en los concentrados de agraz se estudió a seis diferentes valores (3.0 – 8.0) en buffer citrato-fosfato. La degradación de las antocianinas fue mayor para el jugo que para el concentrado. Una disminución significativa en la estabilidad de las antocianinas del concentrado se observó a pH cercano a 5.0.

- ✓ **Cano, (2011). En su investigación “extracción y uso de tres pigmentos naturales a partir de Tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.), Mortiño (*Vaccinium myrtillus* L.) y Mora de castilla (*Rubus glaucus*) como alternativa colorante natural para alimentos”, concluye que estos frutos poseen antocianinas, los cuales son pigmentos naturales de interés para la industria alimentaria y para su extracción, la estabilidad de los colorantes en cada tratamiento fue valorada durante su proceso de almacenamiento en el primero, décimo quinto y vigésimo octavo días. Por último los tratamientos más estables fueron presentados a un panel de diez catadores para su evolución organoléptica final.**

Los resultados indicaron que la coloración obtenida a partir del pigmento en base de tomate de árbol es la que más se acerca a la del testigo y en cuanto a los cambios de color durante el tiempo de almacenamiento fue más estable. En cambio las coloraciones obtenidas en base de los de los pigmentos de mora y mortiño no fueron agradables.

- ✓ Juli, et al., (2011). En su investigación “Antocianinas, polifenoles totales y capacidad antioxidante en dos clones de papa nativa del genero *Solanum* de pulpa azul y roja”, concluye que la concentración de antocianinas de los dos clones de papa nativa difieren significativamente, clon 304239 es la que presenta la mayor concentración de antocianinas (80.44 mg/100 g MF) con respecto al clon 303851 (16.83 mg/100 g MF).

Teves, et al., (2011). En su investigación “Estudio comparativo de la actividad antioxidante in vitro de los extractos antocianicos y caracterización de las antocianidinas en los frutos de las especies vegetales *Prunus serótina* (Capuli), *Muehlenbeckia volcánica* (Benth.) Endl. (Mullak’a), *Monnina salcifolia* R. & P. (Aceitunilla)”, concluye que el contenido de antocianinas totales para cada extracto antocianico, reporta la especie *Muehlenbeckia volcánica* (Benth.) Endl. (Mullak’a) 2000 mg/100 g en frutos secos, para *Monnina salcifolia* R. & P. (Aceitunilla) 100 mg/100 g en frutos secos y para *Prunus serótina* (Capuli) 0.0878 mg/100 g en frutos secos, también se identificaron las antocianidinas por HPLC y por comparación con los cromatogramas de los patrones de referencia de las especies *Vitis vinífera* (Uva) y *Fragaria vesca* (Fresa) son: *Monnina salcifolia* R. & P. (Aceitunilla): delfinidina y cianidina, *Muehlenbeckia volcánica* (Benth.) Endl. (Mullak’a): cianidina, *Prunus serótina* (Capuli): cianidina.

- ✓ Almeida, (2012). En su investigación “Extracción y caracterización del colorante natural del maíz negro (*Zea mays* L.) y determinación de su actividad antioxidante”, concluye las antocianinas, al igual que otros pigmentos de origen natural,

son sensibles a la temperatura y el pH. Se determinó que el extracto colorante de las antocianinas del maíz negro permanece estable a rangos de pH 2-6, y a temperatura de 10 °C-50 °C y el tiempo de vida útil del extracto sólido de las corontas de maíz negro es de 60 días, si se almacena sellado al vacío en envases de color ámbar y en un lugar fresco y seco, a diferencia del extracto líquido, que debido a su elevada actividad de agua se degrada en 30 días.

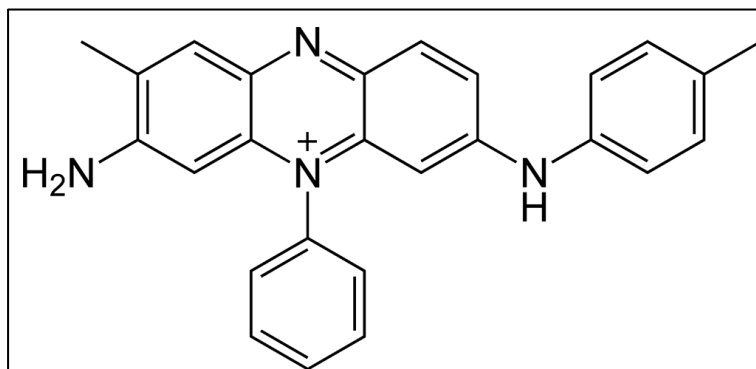
- ✓ **Roldan, (2012).** En su investigación “**Caracterización molecular, funcional y estudio del comportamiento post cosecha del mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) de la comunidad de Quinticusig del Cantón Sigchos de la provincia de Cotopaxi**”, concluye que el contenido de compuestos fenólicos en los frutos de mortiño fue alto en comparación con frutos como la mora, el taxo y el capulí. La concentración de compuestos fenólicos disminuye conforme el fruto madura, el contenido de antocianinas en el fruto de mortiño se incrementa conforme el fruto se desarrolla, y es así como el fruto grado 1, en este estudio, presenta una aparente ausencia de estos compuestos, y fruto grado 3 es el que presenta una mayor concentración de este tipo de compuestos fenólicos, el fruto almacenado a 2 °C mantuvo una tasa de respiración baja y constante durante los 20 días de estudio. Sin embargo, para la temperatura de almacenamiento de 10 °C la tasa de respiración no mostro el inicio de la senescencia del fruto, mientras que a 20 °C la curva de respiración mostro el inicio de la senescencia de fruto al día 7.

1.2. COLORANTES NATURALES

Desde los tiempos prehistóricos hasta la mitad del siglo XIX, el teñido fue hecho con colorantes naturales. La importancia de estos colorantes naturales disminuyó cuando en 1856, el inglés William Henry Perkin, en su intento de sintetizar quinina, oxido sulfato de anilina con dicromato

potásico y produjo el primer colorante sintético: la mauveína, de color púrpura (figura 01). Posteriormente los químicos alemanes, perfeccionaron los colorantes derivados del alquitrán de hulla hasta tal punto que empresas de colorantes vegetales, se arruinaron totalmente antes que finalizara el siglo XIX.

Figura 01: Mauveína



Fuente: Lock Sing, 1997

En los últimos 130 años, se han sintetizado varios miles de compuestos químicos coloridos, de los cuales alrededor de 10000 son o han sido producidos a escala industrial, tratando en muchos casos de sintetizar productos idénticos a los naturales como el β -caroteno.

En 1987 se estimó que la producción mundial de colorantes era de alrededor de 700000 toneladas; de esta producción, un poco más del 50% fue destinada a la producción textil y un 2.2%, fue destinado al sector de alimentos, medicamentos y cosméticos.

La situación y perspectivas actuales de los colorantes naturales se pueden ejemplificar con los carotenos, que son uno de los grupos más importantes en el área de los alimentos medicamentos y cosméticos. Estos compuestos en las que destaca el β -caroteno por sus propiedades antioxidantes y ser precursor de la vitamina A, tiene un mercado actual de 19 millones de dólares, de los cuales aproximadamente 70.0% está aplicado en el sector alimentario, 21.1% como suplemento vitamínico, 5.3% en productos cosméticos y 3.6% para otros productos.

Esto ha considerado un interés mundial en el desarrollo de los colorantes naturales, un indicativo de ello, es el número y distribución de las patentes reportadas a nivel mundial entre 1969 y 1984. Los colorantes naturales pueden ser clasificados según su naturaleza química en diversos grupos (cuadro 01), sus valores de λ_{\max} (Longitud de onda máxima) correspondiente también se muestran.

Como fuentes naturales de estos colorantes podemos considerar las plantas superiores, las algas, hongos y líquenes, algunos insectos, así como algunos organismos marinos invertebrados (no están considerando a los animales vertebrados).

Cuadro 01: Clasificación de los colorantes naturales según su naturaleza química

Naturaleza química	Algunos ejemplos	Color predominante	λ max (nm)
Tetrapirroles (lineales y cíclicos)	ficobilinas clorofila	ficobilinas amarillo rojo verde	610-650 (ficocianinas) 540-570 (ficoeritrinas) 640-660
Carotenoides (tetraterpenoides)	carotenoides	amarillo - anaranjado	400-500
Flavonoides	flavonas flavonoles chalconas auronas antocianinas	blanco-crema amarillo-blanco amarillo amarillo rojo-azul	310-350 330-360 340-390 380-430 480-550
Xantonas	xantonas	amarillo	340-400
Quinonas	naftoquinonas antraquinonas	rojo-azul-verde rojo-purpura	420-460
Derivados indigoides e indoles	indigo betalainas	azul-rosado Amarillo-rojo	470-485 (betaxantinas) 530-554 (betacianinas)
Pirimidinas sustituidas	pterinas flavinas fenoxazinas fenazinas	blanco-amarillo amarillo amarillo-rojo amarillo-purpura	

Fuente: De la Parra *et al.* (2007)

Son muchas las plantas superiores que producen colorantes; a pesar de su universalidad no están lo suficientemente concentrados para permitir una rápida y económica extracción, y en consecuencia son relativamente escasas las que tiene gran importancia comercial como fuente de colorantes.

Aun en la actualidad muchas de las comunidades nativas de nuestro país y de otros países utilizan diversas plantas en el teñido artesanal, especialmente de fibra de lana de (oveja y alpaca), utilizando las diferentes partes de la planta como raíces, tallos, hojas, flores, corteza, etc.

1.2.1. ANTOCIANINAS

El término antocianina fue utilizado por Marquat en 1835 para designar a los pigmentos azules de las flores, mas tarde se descubrió que no sólo el color azul, sino que también el color purpura violeta, magenta, y que todos los tonos de rojo rosado, escarlata, que aparecen en muchas flores, frutos y algunas hojas y raíces de plantas.

Las antocianinas están basadas químicamente en una única estructura aromática, aquella de la cianidina, y todas se consideran derivadas de ella por adición o sustracción de grupos hidroxilo, por metilación o por glicosidación. Ellas son intensamente coloreadas y solubles en agua .Se consideran que tienen como función en la planta el ser atractores de insectos y pájaros para los procesos de polinización y diseminación de las semillas.

Las antocianinas como pigmentos naturales inocuos tiene considerable potencial en la industria alimentaria; pero a diferencia de los pigmentos rojos sintéticos que se utilizan actualmente, las antocianinas no son estables especialmente en soluciones neutras y alcalinas, ocurriendo fácilmente cambios durante el procedimiento del material crudo y el almacenaje, los que se manifiestan en pérdida de color, oscurecimiento de producto, y formación de precipitados en los

extractos. Son también sensibles a las variaciones de pH, a pH 3, el pigmento está presente como sales de flavilo de color rojo a pH 8 es de color violeta y a pH 11 de color azul.

Últimos estudios reportan que el color de las antocianinas se hace resistente a las variaciones de pH cuando se encuentran como productos de condensación con catequinas en presencia de aldehídos, siendo en estos casos de mayor valor como agente de coloración de alimentos.

Las antocianinas juegan un papel importante en la producción de vinos, siendo fuente comercial más antigua de antocianina la “enocianina”, extracto colorado frecuentemente extraído de las uvas y comercializado en Italia desde 1879; originalmente fue utilizado para intensificar el color de los vinos, pero en los últimos años ha encontrado aplicaciones como colorante de alimentos. Así mismo se está haciendo importante la extracción de antocianinas de otras fuentes naturales como el maíz morado, la col, el camote morado y los rabanitos.

Aunque la literatura reporta más de 250 antocianinas, se hace necesaria una mayor investigación para darles un mejor uso y sean más competitivas como alternativas viables a los colorantes sintético hoy en uso.

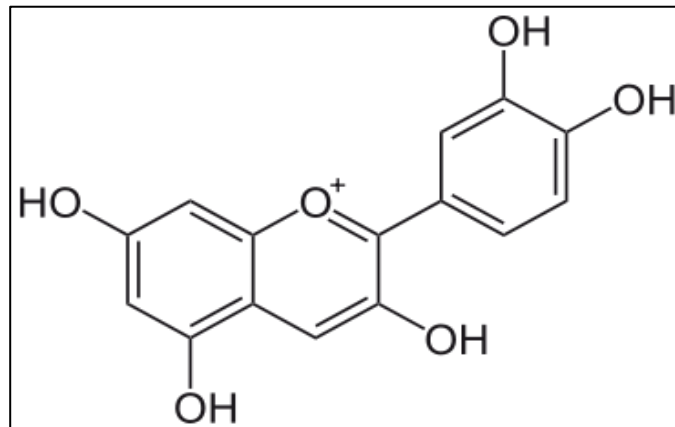
a) ESTRUCTURA

Las antocianinas están consideradas dentro del grupo de los flavonoides ya que poseen el esqueleto característico $C_6-C_3-C_6$ y el mismo origen biosintético pero difieren en que absorben fuertemente en la región visible del espectro.

Hay antocianidinas (agliconas de las antocianinas) comunes, siendo la cianidina la más común y responsable del color magenta, los colores rojo-naranja se deben a la pelargonidina (con un grupo hidroxilo menos que la cianidina); mientras que los colores violeta y azul, la delfinidina (con un grupo hidroxilo más). También son muy comunes tres metil-éteres: peonidina, derivadas de la cianidina, petunidina y malvidina, basadas en la delfinidina. Cada una de las 6 antocianidinas

ocurre con unidades de azúcar, la variación está en el tipo del azúcar, del número y de la posición en los que están unidos. Entre los monosacáridos comunes podemos mencionar a la glucosa, galactosa, ramnosa, xilosa y arabinosa y como disacárido a la rutinosa, sambubiosa, soforosa, gentiobiosa y latirosa.

Figura 02: Estructura de la Cianidina

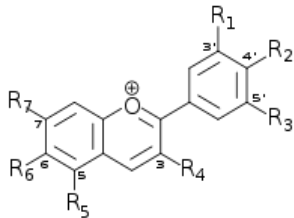


Fuente: Lfevre M. y Cols, 2006

Las agliconas libres raramente existen en los alimentos, excepto posiblemente como componentes traza de las reacciones de degradación. De todas las antocianidinas que actualmente se conocen (aproximadamente 20), las más importantes son la pelargonidina, la delfinidina, la cianidina, la petunidina, la peonidina y la malvidina, nombres que derivan de la fuente vegetal de donde se aislaron por primera vez; la combinación de éstas con los diferentes azúcares genera aproximadamente 150 antocianinas. Los hidratos de carbono que comúnmente se encuentran son la glucosa y la ramnosa, seguidos de la galactosa, la xilosa y la arabinosa y, ocasionalmente, la gentiobiosa, la rutinosa y la soforosa. Como se muestra en la siguiente (cuadro 02), el grupo fenilo en la posición 2 puede llevar diferentes sustituyentes.

Cuadro 02: Grupos radicales para los diferentes tipos de antocianinas

Antocianidina	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇
Aurantidinina	-H	-OH	-H	-OH	-OH	-OH	-OH
Capensinidina	-OCH ₃	-OH	-OCH ₃	-OH	-OCH ₃	-H	-OH
Cianidina	-OH	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OH
Delfinidina	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-H	-OH
Europinidina	-OCH ₃	-OH	-OH	-OH	-OCH ₃	-H	-OH
Luteolinidina	-OH	-OH	-H	-H	-OH	-H	-OH
Pelargonidina	-H	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OH
Malvidina	-OCH ₃	-OH	-OCH ₃	-OH	-OH	-H	-OH
Peonidina	-OCH ₃	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OH
Petunidina	-OH	-OH	-OCH ₃	-OH	-OH	-H	-OH
Rosinidina	-OCH ₃	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OCH ₃



Fuente: Lfevre M. y Cols, 2006.

b) LAS ANTOCIANINAS EN LA ALIMENTACIÓN

El interés por los pigmentos antociánicos se ha intensificado recientemente debido a sus propiedades farmacológicas y terapéuticas. Debido a que durante el paso desde el tracto

digestivo al torrente sanguíneo de los mamíferos, las antocianinas permanecen intactas, su consumo puede tener un impacto directo sobre la salud humana.

✓ **BENEFICIOS**

Ejercen efectos terapéuticos conocidos que incluyen la reducción de la enfermedad coronaria, efectos antitumorales, antiinflamatorios y antidiabéticos, además del mejoramiento de la agudeza visual y del comportamiento cognitivo. Los efectos terapéuticos de las antocianinas están relacionados con su actividad antioxidante. Estudios con fracciones de antocianinas provenientes del vino han demostrado que estas son efectivas en atrapar especies reactivas del oxígeno, además de inhibir la oxidación de lipoproteínas y la agregación de plaquetas. (Ghiselli, *et al.*, 1998)

✓ **OBESIDAD**

Un diverso grupo de compuestos fenólicos provenientes de los denominados frutos rojos, tales como flavonoles, elagitaninos y antocianidinas, inhiben las enzimas digestivas α -glucosidasa, α -amilasa, proteasa y lipasa, las cuales son dianas terapéuticas para controlar la diabetes mellitus tipo 2 y la obesidad. Las antocianinas restringen la actividad de la α -glucosidasa, lo que determina una disminución de los niveles de glucosa en sangre. Además, junto con los elagitaninos, actúan sinérgicamente para inhibir la actividad de la enzima α -amilasa. Las pro-antocianidinas contribuyen principalmente en la inhibición de la lipasa gastrointestinal y limitan la digestión de las grasas después de las comidas. Las antocianinas de la uva, por otro lado, inhibirían el desarrollo de la obesidad ya que, al menos *in vitro*, producen una disminución de la acumulación de lípidos en los adipocitos maduros. (Lefevre *et al.*, 2006)

✓ **FUNCIONES NEUROLÓGICAS**

Una dieta de 2% de bayas de *Vaccinium* (arándanos) suministrada a ratas de la cepa F344 durante 8 semanas fue efectiva para mejorar las deficiencias relacionadas con la edad en el señalamiento neuronal y parámetros de comportamiento. Se ha informado que varias antocianinas como el 3-galactósido de cianidina, el 3-glucósido de cianidina, el 3-arabinosa cianidina, 3-el galactósido de malvidina y el 3-galactósido de delphinidina, entre otros, pueden localizarse en varias regiones del cerebro de las ratas tratadas de este modo. En otro estudio, los mismos frutos, pero liofilizados, demostraron que mejoran la memoria a corto plazo de las ratas a una dosis de 3.2 mg/día por 30 días.

✓ **SISTEMA INMUNE**

La ingestión de frutos rojos también mejora el sistema inmune. Los jugos ricos en antocianinas, como los de frutas de arándanos o de boysenberry (*Rubus ursinus* x *idaeus*), cuando son suministrados como suplemento de la dieta a gente sana, incrementan la proliferación de linfocitos, como así también la secreción de citocianinas (interleucina 2) por los linfocitos activados.

c) **COLORANTES ALIMENTICIOS**

El interés por los pigmentos antociánicos y su investigación científica se ha incrementado en los últimos años, debido no solamente al color que confieren a los productos que las contienen sino a su probable papel en la reducción de las enfermedades coronarias, cáncer y diabetes; a sus efectos antiinflamatorios y al mejoramiento de la agudeza visual y del comportamiento cognitivo. Por lo tanto, además de su papel funcional como colorantes, las antocianinas son agentes potenciales en la obtención de productos con valor agregado para el consumo humano. (Garzon, 2008)

La demanda de antocianina a nivel mundial, obtenida a partir de fuentes naturales, se calcula entre 1200 y 1300 toneladas anuales. Los principales países consumidores son Japón y Estados Unidos y en menor escala Francia, Inglaterra, Alemania, España, Bélgica y Venezuela. La producción global de antocianinas está orientada a las empresas productoras de productos de bebidas, saborizantes de yogur y golosinas.

✓ **IMPORTANCIA DE LAS ANTOCIANINAS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA**

Las antocianinas representan un factor muy importante en la industria alimenticia debido a las restricciones sanitarias hacia el uso de colorantes sintéticos, adicionalmente estas sustancias poseen un valor agregado que es su capacidad antioxidante (López, 2007); por esta razón se está creando un excelente mercado de exportación de frutas frescas con un alto contenido de antocianinas.

Las antocianinas representa un grupo muy amplio de compuestos fenólicos vegetales, estos son los pigmentos hidrosolubles rojos, azules y púrpuras de las flores, frutas y verduras, estas poseen una estructura básica en común, químicamente son glicósidos de las antocianinas, es decir, están constituidas por una molécula de antocianidina, que es la aglicona, a la que se une un azúcar por medio de un enlace β -glucosídico (Poo, 2005).

✓ **ANTOCIANINAS EN VINOS**

Los vinos están compuestos por varias familias de compuestos químicos. Dentro de estas familias, las antocianinas son un importante parámetro de calidad de uvas rojas, debido a la importancia que estos compuestos tienen en el color de los respectivos vinos. Las antocianinas están en las plantas en una distribución específica, tanto cualitativa como cuantitativamente, lo que las hace un marcador bioquímico muy útil en quimiotaxonomía, al

igual que un índice de control de calidad y aseguramiento de calidad en productos de origen vegetal. En las uvas y en los vinos realizados a partir de ellas, las antocianinas presentes están estructuralmente basadas en cinco agliconas, denominadas malvidina, petunidina, peonidina, delphinidina y cianidina. Las antocianidinas glicosiladas (antocianinas) existen como 3-O-glucósidos, 3-O-acetilglucósidos y 3-O- (6-O-p-cumaroil) glucósidos.

d) EXTRACCIÓN Y AISLAMIENTO

El método usual de extracción es por maceración de la muestra con una solución de HCl 1% en metanol (en etanol en caso de utilizarlos para alimentos), dejándolo toda la noche en la refrigeradora (tener cuidado de dejar el recipiente cubierto en la refrigeradora; especialmente cuando se trata de la solución metanólica), la solución de antocianina así obtenida se concentra al vacío en una temperatura menor de 30 °C y luego se cromatografía sobre papel Whatman N°3 ,puede utilizarse una serie de sistemas n-butanol:ácido acético glacial:agua, (BAW) 4:1:5; fase superior, n-butanol:HCl 2N, fase superior) entre otros, si la muestra contiene apreciable cantidad de azúcares puede emplearse 1% HCl en agua, lo que produce mejores resultados que con BAW.

Además de la metodología usual de extracción descrita, es conveniente considerar lo siguiente.

- ✓ La extracción puede realizarse también en frío con solventes no acidificados, como metanol 60%, n-butanol, etilenglicol, propilenglicol, acetona, mezcla de acetona/metanol/agua, o simplemente con agua a ebullición, todos estos casos se espera que las antocianinas sean extraídas en el estado más natural posible, ya que un medio ácido, HCl, podría alterar su estado original, además que puede producirse pérdida de grupos ácido (lábil y de azúcares).

- ✓ Como medio ácido puede utilizarse además de HCl, ácidos orgánicos débiles como el ácido fórmico y ácido tartárico.
- ✓ El uso de etanol, conteniendo 200 a 2000 ppm de SO₂ incrementa el rendimiento de extracción, resultando un extracto que posee hasta dos veces el poder tintóreo en comparación al uso de etanol solamente.

e) FACTORES QUE INFLUYEN EN LA ESTABILIDAD DE LAS ANTOCIANINAS

Las antocianinas son solubles en medio acuoso, se degradan durante el almacenamiento, cambiando el color cuanto más elevada sea la temperatura, en cambio, presentan buena estabilidad en medio ácido. Este tipo de pigmento es relativamente poco usado, teniendo uso en algunos lácteos, helados, caramelos, productos de pastelería y conservas vegetales. El conocimiento de la química de las antocianinas se puede utilizar para minimizar su degradación mediante la adecuada selección de los procesos y por selección de los pigmentos antocianicos que sean más adecuadas para la aplicación que se desea.

Las antocianinas presentan serios inconvenientes relacionados a su estabilidad, ya que son afectados por cambios en pH, temperatura, oxidación, presencia de otros flavonoles y metales (Peguero, 2007).

Debido a la deficiencia electrónica del núcleo flavilio las antocianidinas tienden a reacciones que alteran su estructura, su estabilidad se incrementa a mayor número de grupos metóxilos y decrece a mayor cantidad de grupos hidroxilos en la molécula (Peguero, 2007).

✓ TEMPERATURA

Los tratamientos térmicos influyen significativamente en la destrucción de las antocianinas; es así como se ha visto que en las fresas se presenta una relación logarítmica entre la pérdida de color y la temperatura (Badui, 1993).

Dada su alta hidrosolubilidad, estos pigmentos se pueden perder fácilmente por lixiviación en el agua que se utiliza en los diferentes tratamientos; a medida que aumenta la temperatura se acelera la decoloración de la fruta, ya que se favorece tanto la extracción que incluso se puede llegar a obtener productos prácticamente incoloros (Badui, 1993).

La estabilidad de las antocianinas en los alimentos se ve notablemente afectada por la temperatura. En general las características estructurales que conducen a un aumento de la estabilidad del pH también llevan a la estabilidad térmica. Las antocianidinas altamente hidrolizadas son menos estables que las metiladas, glucosiladas o acetiladas (Fennema, 2000).

Las antocianinas también cambian de color cuando forman complejos con otros compuestos fenólicos (proantocianidinas, catequinas, taninos y flavonoides) o con algunos polisacáridos, ya que se favorece un desplazamiento de la absorción a longitudes de onda mayores (Badui, 1993).

✓ pH

Debido a una deficiencia del núcleo del flavilio, estos pigmentos funcionan como verdaderos indicadores de pH; es decir, su color depende de las condiciones de acidez o alcalinidad del sistema en que se encuentran: a pH ácido adquiere una estructura estable del catión flavilio de color rojo, cuando se incrementa el pH, la distribución electrónica se modifica hasta llegar a la forma quinoidea azul o base anhidra; tanto la sal del flavilio como la base anhidra pueden

convertirse a la base del carbinol incolora, que predomina en el intervalo de pH de 4 a 5 (Badui , 1993).

La dependencia del color con el pH, y de la estabilidad cromática de los pigmentos de antocianinas tiene cierta importancia en el proceso de alimentos. (Bawerman, 1980).

f) DETERMINACIÓN DE LAS ANTOCIANINAS

Existen distintas formas para determinar antocianinas ya sea en forma total o en forma separada cada antocianina. Si se quiere establecer las antocianinas en forma general muchos autores de diversos estudios utilizan el método de pH diferencial. Pero si se desea determinar las antocianinas en forma separada se recomienda utilizar cromatografía (Rebolledo, 2007).

✓ DETERMINACIÓN DE ANTOCIANINAS DE FORMA TOTAL

La forma más utilizada para determinar antocianinas en forma total es la basada en diferencial de pH, el contenido total de antocianinas en extractos crudos que contiene otros materiales fenólicos, que son determinadas por mediciones de absorción de la solución a una determinada longitud de onda, esto es posible porque las antocianinas tienen una típica banda de absorción entre 490 y 550 nm en la región del espectro visible. Esta banda está lejos de la banda de absorción de otros fenoles, y tiene un máximo espectro en el rango UV. En muchas instancias, sin embargo, este simple método es inapropiado por la interferencia de productos de degradación de antocianinas o melanoidinas de reacciones de pardeamiento, en ambos casos, el acercamiento debe ser usado para diferenciar y/o métodos sustractivos para cuantificar antocianinas y su producto de degradación (Rebolledo, 2007).

Existen otras metodologías para determinar antocianinas como mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución o *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC), utilizando la metodología de **Giusti y Wrolstad, 2001**, esta metodología se describe a detalle en el capítulo de materiales y métodos.

g) FUNCIONES

Las antocianinas pueden encontrarse en las hojas, haciendo que las mismas muestren un color rojizo. Esta coloración puede deberse a un mecanismo de defensa, para proteger a las plantas, sus flores y sus frutas contra la luz ultravioleta (UV) y, por su propiedad antioxidante, evitar la producción de radicales libres. Las hojas de muchas especies muestran un color rojo bien diferenciado durante el otoño, tales como: *Amherstia*, *Andira*, *Bombax*, *Brownea*, *Calophyllum*, *Cecropia*, *Ceiba*, *Cinnamomum*, *Coccoloba*, *Diospyrus*, *Eugenia*, *Gustavia*, *Lophira*, *Mangifera*, *Mesua*, *Pachira*, *Persea*, *Saraca*, *Triplaris*. También se hallan altas concentraciones de antocianinas en *Acalypha* y en muchas especies de las familias Araceae, Bromeliaceae, Marantaceae, Liliaceae y Euphorbiaceae, que atraen a los polinizadores a sus flores mediante los brillantes colores provistos por estos compuestos. En algunos árboles, como el arce rojo Americano (*Acer rubrum*) o el roble escarlata (*Quercus coccinea*), los flavonoles (un tipo de flavonoide) incoloros se convierten en antocianinas rojas cuando la clorofila de sus hojas se degrada. En otoño, cuando la clorofila se descompone, los flavonoides incoloros se ven privados del átomo de oxígeno unido a su anillo central, lo que los convierte en antocianinas, dando colores brillantes. Esta transformación química que consiste sólo en la pérdida de un átomo de oxígeno es la responsable de nuestra percepción de los colores del otoño. Las antocianinas que aparecen en el otoño probablemente son las que protegen a las hojas del efecto de los rayos UV

del Sol. Se especula que esta protección de las hojas aumenta su efectividad para transportar nutrientes durante su senescencia.

h) DISTRIBUCIÓN

Las antocianinas se encuentran principalmente en los frutos y flores de las angiospermas y generalmente como mezcla de ellas.

Las mayores fuentes alimenticias conteniendo antocianinas pertenecen a las familias Vitaceae (uva) y Rosaceae (fresa, cereza, manzana, pera, etc); otras familias en las que se encuentra son las Oleaceae (olivo negro), Crucíferas (calabaza roja, repollo morado), Solanaceae (tomatillo, papas, camotes), etc.

1.3. ESPECTROFOTOMETRÍA

La espectrofotometría es una técnica que mide la interacción de moléculas con la radiación electromagnética. La luz que se encuentra en el rango visible y ultravioleta de los espectros electromagnéticos presenta una energía de 150- 400 $kJmol^{-1}$. La energía de la luz es usada para promover electrones de un estado de excitación a otro. Un espectro es obtenido cuando la absorción de luz es medida en función de una frecuencia o longitud. Moléculas con electrones deslocalizados en sistemas aromáticos a menudo absorben la luz a 150-400 nm (ultravioleta) o en la región visible de 400-800 nm (Arenas, 2004).

La espectrofotometría de absorción es usualmente usada con moléculas disueltas en un solvente transparente. La absorbancia de un soluto depende linealmente de la concentración y por consiguiente la espectrofotometría de absorción es ideal para hacer mediciones cuantitativas. La longitud de absorción y la fuerza de absorbancia de una molécula no sólo depende de la naturaleza química, si no del ambiente molecular en donde se encuentre el cromóforo. La

espectrofotometría de absorción es por lo tanto una excelente técnica para seguir reacciones de unión a ligando, catálisis enzimáticas y transiciones (Arenas, 2004).

El espectrofotómetro nos permitirá medir la absorbancia a la longitud de onda de máxima absorción para antocianinas. Además nos permitirá saber la cantidad de antocianinas presentes en las muestras a analizar.

1.4. DESCRIPCIÓN DE LAS PLANTAS EN ESTUDIO

1.4.1. *Hesperomeles escalloniifolia* Schltld (CAPACHU)

Según Blgo. Alfredo Tupayachi Herrera (profesor investigador asociado al herbario VARGAS CUZ) (2013) y según Cronquist (1981), compatibiliza con el grupo del sistema filogenético de las angiospermas (Angiosperm Phylogeny Group, APG III (2009)), su clasificación taxonómica es el siguiente:

a) CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

División	: Magnoliophyta (=Angiospermas)
Clase	: Magnoliopsida=Tricolpados (Eudicotiledóneas)
Subclase	: Rosidae
Super orden	: Rosanae
Orden	: Rosales
Familia	: Rosaceae
Género	: <i>Hesperomeles</i>
Especie	: <i>Hesperomeles escalloniifolia</i> (Schltld.) C.K. Schneid

Sinonimias: *Crataegus escalloniifolia* Schltld.; *Hesperomeles pernettyoides* var. *Microphylla* Wedd.; *Osteomeles escalloniifolia* (Schltld) Decne.

Nombres comunes: “Millucapa”, “Ñut’u mayu manzana”, “Capachu”

b) DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Hesperomeles escalloniifolia (Schltdl.) C.K. Schneid es un árbol denso armado de espinos simples, tiene los tallos leñosos que alcanzan hasta los 3 metros de altura, son erectos y ramificados con la corteza de color ceniza, las hojas según su forma es elíptica de unos 0.5 cm de longitud, las flores aparecen entre diciembre y enero, son pequeñas y rosadas, agrupadas en pequeños racimos colgantes, los frutos es posible encontrarlos entre los meses de marzo y junio, son bayas de 1 a 1.5 cm de longitud de color rojo brillante, que al madurar toman un color rojo azul oscuro o morados, son ácidas pero de sabor agradable (Bernal, 1989).

1.4.2. *Berberis cummutata* Eichler (HUANCACHU)

Según Blgo. Alfredo Tupayachi Herrera (profesor investigador asociado al herbario VARGAS CUZ) (2013) y según Cronquist (1981), compatibiliza con el grupo del sistema filogenético de las angiospermas (Angiosperm Phylogeny Group, APG III (2009)), su clasificación taxonómica es el siguiente:

a) CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

División	: Magnoliophyta (=Angiospermas)
Clase	: Magnoliopsida=Tricolpados (Eudicotiledóneas)
Subclase	: Magnoliidae
Super orden	: Ranunculanae
Orden	: Ranunculales
Familia	: Berberidaceae
Género	: <i>Berberis</i>
Especie	: <i>Berberis cummutata</i> Eichler

Sinonimias: *Berberis divariacata* Rusby, *Berberis trollii* Diels

Nombres comunes: “T’ancar ch’eqche”, “Queshua ch’eqche”, “Huancachu”, “Airampo”

b) DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Berberis cummutata Eichler es un arbusto denso armado de espinos simples o triples, tiene los tallos leñosos que alcanzan hasta los 2.5 metros de altura, son erectos y ramificados con la corteza de color ceniza, las hojas son ovaladas, alternas, pueden medir hasta 1.5 cm de longitud, en sus tallos podemos encontrar espinas con un largo de 1 y 1.5 cm, las flores aparecen entre enero y febrero, son pequeñas y amarillas, agrupadas en pequeños racimos colgantes, los frutos es posible encontrarlos entre los meses de marzo y mayo, son bayas de 5 a 15 mm de longitud de color rojo brillante, que al madurar toman un color rojo azul oscuro o morados, son ácidas pero de sabor agradable ricas en vitamina C y antocianinas (Bernal, 1989).

1.4.3. ***Berberis humbertiana*** J.F. Macbr (CHEQCHE)

Según Blgo. Alfredo Tupayachi Herrera (profesor investigador asociado al herbario VARGAS CUZ) (2013) y según Cronquist (1981), compatibiliza con el grupo del sistema filogenético de las angiospermas (Angiosperm Phylogeny Group, APG III (2009)), su clasificación taxonómica es el siguiente:

a) CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

División	: Magnoliophyta (=Angiospermas)
Clase	: Magnoliopsida=Tricolpados (Eudicotiledóneas)
Subclase	: Magnoliidae
Super orden	: Ranunculanae
Orden	: Ranunculales
Familia	: Berberidaceae
Género	: <i>Berberis</i>
Especie	: <i>Berberis humbertiana</i> J.F. Macbr.

Sinonimias: *No tiene.*

Nombres comunes: “Cjata cheqche”, “Teqte”, “Cheqche”

b) DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Berberis humbertiana J.F. Macbr es un arbusto denso armado de espinos simples o triples, tiene los tallos leñosos que alcanzan hasta los 2 metros de altura, son erectos y ramificados con la corteza de color ceniza, las hojas son ovales, alternas, con peciolo corto de unos 0.1 cm de longitud, en los tallos presentan espinas con un largo de 0.2 y 0.4 cm, las flores aparecen entre diciembre y febrero, son pequeñas y amarillas, agrupadas en pequeños racimos colgantes, los frutos es posible encontrarlos entre los meses de abril y junio, son bayas de 5 a 15 mm de longitud de color rojo brillante, que al madurar toman un color rojo azul oscuro o morados, son ácidas pero de sabor agradable ricas en vitamina C y antocianinas (Bernal, 1989).

1.4.4. *Vaccinium floribundum* Kunth (ALAYBILÍ)

Según Blgo. Alfredo Tupayachi Herrera (profesor investigador asociado al herbario VARGAS CUZ) (2013) y según Cronquist (1981), compatibiliza con el grupo del sistema filogenético de las angiospermas (Angiosperm Phylogeny Group, APG III (2009)), su clasificación taxonómica es el siguiente:

a) CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

División	: Magnoliophyta (=Angiospermas)
Clase	: Magnoliopsida=Tricolpados (Eudicotiledóneas)
Subclase	: Asteridae
Super orden	: Asteranae
Orden	: Ericales
Familia	: Ericaceae
Género	: <i>Vaccinium</i>
Especie	: <i>Vaccinium floribundum</i> Kunth

Sinonimias: *Vaccinium thymifolium* Klotzsch; *V. tatei* Rusby; *V. ramosissimum* Dunal; *V. polystachyum* Benth; *V. mortinia* Benth; *V. marginatum* Dunal; *V. floribundum* var. *tatei* (Rusby) Sleuner.

Nombres comunes: “Macha macha”, “Alqo machamacha”, “Congama”, “Alaybili”

b) DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

La planta de *Vaccinium floribundum* Kunth, alaybili es un arbusto enano, de 1.5 m de alto, ramificado con hojas alternas de 2 cm de largo, con el margen aserrado o crenado, cuya nervación es pinnada. La inflorescencia se presenta en racimos de 6 a 10 flores. Las flores miden 8 mm de largo, la corola es cilíndrica con 4 ó 5 dientes, de color blanco o rosado rojizo, el ovario es ínfero, el estilo es ligeramente más largo que el tubo de la corola. Los frutos son bayas redondeadas, miden hasta 8 mm de diámetro, carnosos, de color negro-azul, morado a veces con una cubierta cerosa (Aguilar *et al.*, 2009; Pérez y Valdivieso, 2007).

1.5. JUSTIFICACIÓN

Actualmente hay un considerable interés mundial en el desarrollo de colorantes naturales, esto se debe, a la necesidad de expansión de la variedad de los colorantes, a la implicación de que son naturales y por consiguiente seguros, además en la industria de alimentos se requiere de productos de mayor calidad nutricional y que no presenten riesgos a la salud como demuestran ciertos estudios realizados a algunos colorantes artificiales utilizados en la industria de alimentos. El mercado de colorantes naturales va en aumento, esto se debe principalmente a la percepción del consumidor que “lo natural es mejor” Pszczola, (1998).

La falta de conocimiento de los colorantes naturales que tienen los frutos de *Hesperomeles escalloniifolia* Schldl (Capachu), *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu), *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) y *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybili) se viene

desaprovechando este recurso potencial en esta parte del país, debido a que aún no han sido sujeto a investigaciones que demuestren su potencial en colorantes naturales como las antocianinas, por lo tanto, dentro de sus objetivos en el presente trabajo de investigación se establece evaluar la estabilidad de las antocianinas presentes en dichos frutos a pH: 3; 4 y 5 y a temperatura: 20, 30 y 40 °C siendo estos factores que influyen en la estabilidad de las antocianinas, a partir de esta investigación se puede planteará una alternativa que puede ayude a un mayor aprovechamiento de estos frutos, beneficiándose así los pobladores de esa parte del país donde se desarrollan dichos frutos y finalmente es un aporte importante para la industria alimentaria, debido a que los colorantes antociánicos pueden ser un sustituto eficaz de los colorantes sintéticos: Rojo N° 40, 3 y 2, brindando al consumidor final mayor seguridad en los productos que consumen, las antocianinas proporcionan un amplio espectro de beneficios a la salud, debido a su capacidad antioxidante presentan la propiedad de prevenir y combatir enfermedades del corazón y varias formas de cáncer, por ser colorantes naturales no requieren certificación.

Siendo Apurímac un departamento que basa en buena parte su economía en la agricultura, el proyecto tendrá incidencia positiva en lo social y económico, al buscar fortalecer un renglón productivo de importancia estratégica para la producción agrícola forestal Apurimeña, presentando otras aplicaciones y potenciales mercados para productos que se cultivan en el país aportándoles un mayor valor agregado.

1.6. OBJETIVOS

Objetivo general

- ✓ Evaluar la estabilidad de antocianinas presentes en los frutos de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltld (Capachu), *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu), *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) y *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí) frente al pH y temperatura.

Objetivos específicos

- ✓ Identificar las antocianidinas presentes en los frutos de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltld (Capachu), *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu), *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) y *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí).
- ✓ Cuantificar las antocianinas presentes en los frutos de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltld (Capachu), *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu), *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) y *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí).
- ✓ Evaluar la estabilidad de antocianinas presentes en los frutos de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltld (Capachu), *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu), *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) y *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí) a pH (3,4 y 5) y temperatura (20, 30 y 40 °C).

1.7. PROBLEMA

¿De qué manera el pH y la Temperatura influyen en la estabilidad de antocianinas presentes en los frutos de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltld (Capachu), *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu), *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) y *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí)?

1.8. HIPÓTESIS

El pH y la Temperatura influyen en la estabilidad de antocianinas presentes en los frutos de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltdl (Capachu), *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu), *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) y *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí).

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

El desarrollo de la investigación se llevó a cabo en los laboratorios de química y procesos agroindustriales de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional José María Arguedas (UNAJMA), ubicada en el barrio de Santa Rosa del distrito de Talavera, provincia de Andahuaylas del departamento de Apurímac y en el Laboratorio de Cromatografía de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC), ubicada en la provincia de Cusco del departamento de Cusco.

2.2. MATERIAL DE ESTUDIO

Para la investigación se recolectaron los frutos de *Hesperomeles escalloniifolia* Schldtl (Capachu), *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu), *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) y *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybili), 250 gramos de cada uno, entre los meses de febrero y abril del 2013, meses en los cuales los frutos se encuentran completamente maduros y presentan la máxima coloración morada, se colectaron del bosque Kankarhuay ubicado en la localidad de Cotahuacho distrito de Pacucha, provincia de Andahuaylas, departamento de Apurímac y posteriormente estos frutos fueron deshidratadas hasta alcanzar una humedad de 15-18% aproximadamente, fue una forma de conservar los frutos hasta el momento de su estudio.

El bosque Kankarhuay se encuentra al Noreste de la ciudad de Andahuaylas limitado entre los puntos geográficos 13°33'20.13"; 13°33'55.53" LS, 73°18'33" LO y 13°34'28.53"; 13°34'57.4" LS, 73°16'40.2" LO del meridiano de Greenwich, entre los 2 500 y 4 080 msnm; con un área aproximada de 415.80 Has (Reynaga, 2003).

2.2.1. Universo y/o Población

Se consideró como universo y/o población a los frutos de las plantas ***Hesperomeles escalloniifolia* Schldl** (Capachu), ***Berberis cummutata* Eichler** (Huancachu), ***Berberis humbertiana* J.F. Macbr** (Cheqche) y ***Vaccinium floribundum* Kunth** (Alaybili), las cuales crecen en el bosque Kankarhuay, ubicado en la localidad de Cotahuacho distrito de Pacucha, provincia de Andahuaylas, departamento de Apurímac, frutos que se encuentran completamente maduros con una máxima coloración morada.

2.2.2. Muestra

Para obtener la muestra se realizó un muestreo estratificado al azar, esto consistió en recolectar los frutos con las siguientes características: los frutos deben encontrarse completamente maduros con una máxima coloración morada y ser de buen tamaño, una vez obtenido los frutos con estas características se tomó muestras al azar de 1 kilogramo para cada fruto.

2.3. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS E INSUMOS DE LABORATORIO

2.3.1. Equipos

Cuadro 03: Equipos

CANTIDAD	EQUIPOS	MARCA
01	Cromatografía Líquida de Alta Resolución o <i>High Performance Liquid Chromatography</i> (HPLC)	AGILENT
01	Espectrofotómetro UV-Visible	GENESIS
01	pH-metro digital	LOVIBOND
03	Estufa (Incubadora), temperatura máximo 75 °C	MEMMERT/INB 400
01	Refrigeradora	INRESA
01	Balanza digital de precisión Cap. 100 g. Sensibilidad 0.01 g.	ABS 200-4

01	Centrifuga de 4000 rpm.	LW-SCIENTIFIQUE
01	Analizador de humedad 0.01%, precisión 0.001 g.	ADAM
03	Termómetro digital	

2.3.2. Materiales

Cuadro 04: Materiales

CANTIDAD	MATERIALES	MARCA
45	Botellas de vidrio	-----
20	Viales de 20 mL	-----
05	Fioles de 250 mL	FORTUNA
05	Gradilla para tubos de ensayo	S/M
05	Embudo de vidrio	FORTUNA
05	Balón de vidrio de 250 mL	FORTUNA
05	Varilla de vidrio	FORTUNA
02	Espátula de acero inoxidable mango de madera	S/M
05	Matraz Erlenmeyer de 250 mL	SCHOTT
04	Mortero con pilón	SCHOTT
02	Pizetas	S/M
05	Probetas de 100 mL	KYNTEL
04	Vasos precipitados de 100 mL	FORTUNA
08	Papel filtro.589/2 (Watman -40). Ø 11 cm	S&S
05	Pipetas de 1 mL	FORTUNA
02	Pro pipetas	D&N
04	Parafilm	
01	Cubeta de cuarzo	
01	Rotulador	FABER-CASTELL

2.3.3. Reactivos e insumos

Cuadro 05: Reactivos e insumos

CANTIDAD	REACTIVOS E INSUMOS
2 l	Etanol 95%
10 mL	Ácido clorhídrico concentrado
50 mL	Hidróxido de sodio
04	Cartuchos (C-18)
200 mL	Metanol acidificado
100 mL	Acetona
100 mL	Cloroformo
2 g.	Cloruro de potasio
30 g.	Acetato de sodio
3 l	Agua destilada

2.3.4. Material vegetal

Cuadro 06: Material vegetal

CANTIDAD	MATERIAL VEGETAL	ORIGEN
250 g.	<i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schldt (CAPACHU)	Colectado del bosque Kankarhuay ubicado en el distrito de Pacucha, Prov.Andahuaylas, Depart. Apurímac.
250 g.	<i>Berberis cummutata</i> Eichler (HUANCACHU)	Colectado del bosque Kankarhuay ubicado en el distrito de Pacucha, Prov.Andahuaylas, Depart. Apurímac.
250 g.	<i>Berberis humbertiana</i> J.F. Macbr (CHEQCHE)	Colectado del bosque Kankarhuay

		ubicado en el distrito de Pacucha, Prov. Andahuaylas, Depart. Apurímac.
250 g.	<i>Vaccinium floribundum</i> Kunth (ALAYBILÍ)	Colectado del bosque Kankarhuay ubicado en el distrito de Pacucha, Prov. Andahuaylas, Depart. Apurímac.

2.4. METODOLOGÍA

2.4.1. MÉTODO PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LAS ANTOCIANINAS POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (HPLC).

La metodología propuesta por (Giusti y Wrolstad, 2001) se utilizó para identificar las antocianinas presentes en los frutos de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltldl (Capachu), *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu), *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) y *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí), en dicha metodología se utilizó el equipo de Cromatografía Líquida de Alta Resolución o *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) y ésta se realizó de la siguiente manera:

HIDRÓLISIS ÁCIDA DE LAS ANTOCIANINAS

Este método se basa en obtener los aglicones que son las antocianinas, por separación de los azúcares y otras sustancias como ácidos ligados a la estructura antocianina, con el único propósito de identificar las antocianinas presentes en el pigmento.

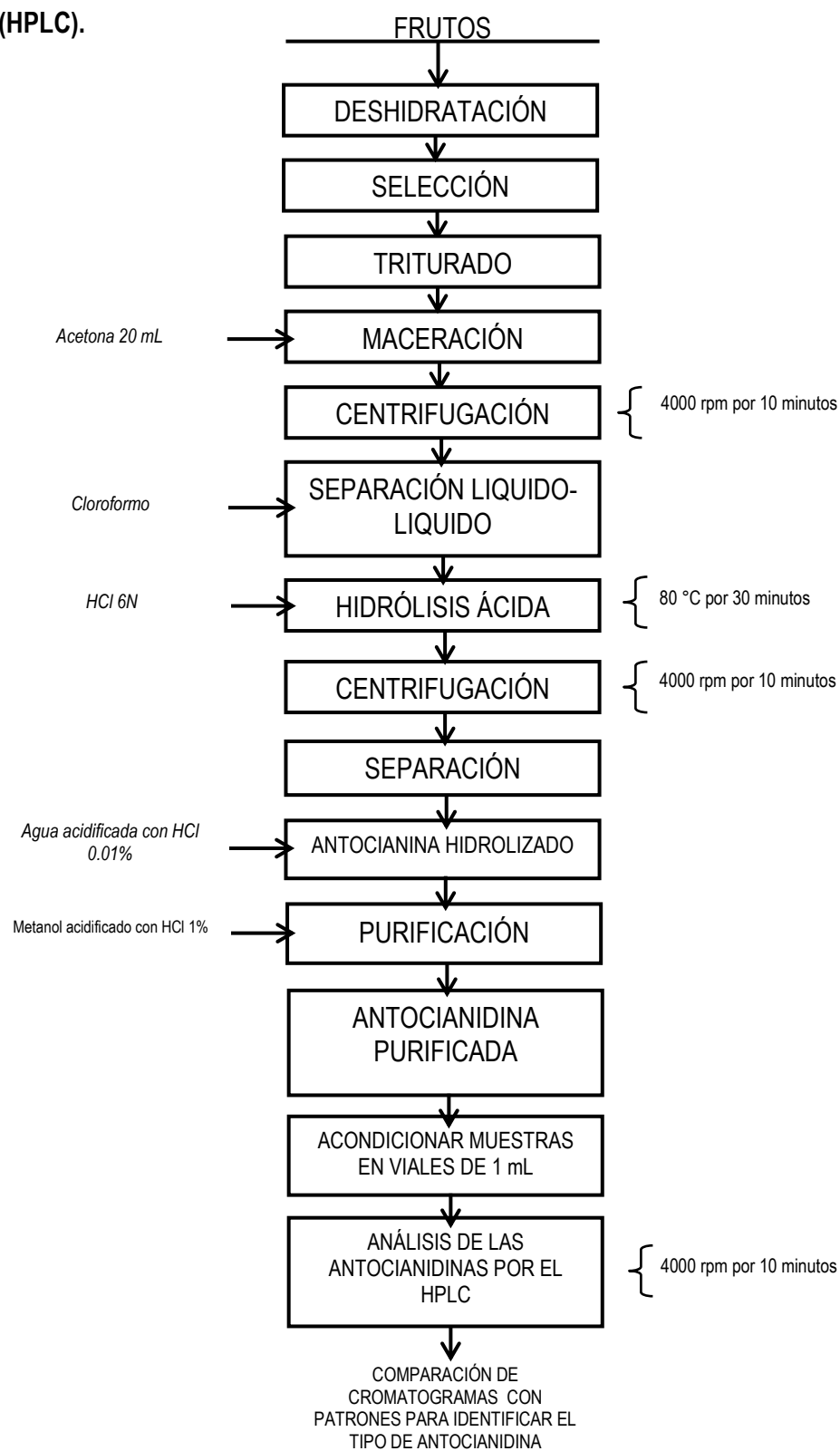
PROCEDIMIENTO

- ✓ Se tomó 1 g de muestra de cada uno de los frutos y se trituró con un mortero.
- ✓ La muestra triturada de cada uno de los frutos fue transferida a un beaker de 50 mL luego se agregó acetona 20 mL y se dejó macerar en un tiempo suficiente hasta que el solvente se sature.
- ✓ Cada una de las muestras maceradas fueron transferidas a los tubos de ensayo de la centrifuga de cada una de las muestras y posteriormente fue centrifugada a 4000 rpm por 10 minutos, la finalidad fue de separar el solvente con antocianinas de la parte solida (residuo).
- ✓ El sobrenadante de las muestras después de la centrifugación fue transferido a viales de 20 mL y luego se adicionó cloroformo para hacer la separación liquido-liquido, después la porción acuosa (parte superior) fue colectada de cada muestra en dos viales de 20 mL, una muestra para hacer la hidrolisis, que esta muestra servirá para identificar antocianidinas y la otra muestra para hacer la identificación de las antocianinas.
- ✓ Para realizar la hidrólisis ácida a las muestras, se adicionó 10 mL ácido clorhídrico HCl 6N en muestras de 5 mL y posteriormente los viales fueron sellados.
- ✓ Las muestras en viales sellados se llevó a una estufa a 80 °C por 30 minutos para realizar la hidrólisis ácida.
- ✓ Las muestras hidrolizadas fueron transferidos a las tubos de la centrifuga y luego se centrifugó a 4000 rpm por 10 minutos, el sobrenadante se separó, la parte solida es la antocianina hidrolizada (antocianidina).
- ✓ A la antocianina hidrolizada (antocianidina) fue transferida a un beaker de 50 mL y se adiciono 5 mL de agua acidificada con HCl 0.01%, de esta muestra se tomó 5

mL y se pasó por C-18 para hacer la purificación de la antocianidina, la antocianidina fue retenida por la silicagel que existe en el C-18 posteriormente fue lavado con metanol acidificado con HCl 1%, para eliminar algunas impurezas, la antocianidina fue purificada, para desprender la antocianidina de C-18 se adicionó agua acidificada con HCl 0.01% finalmente se obtuvo antocianidina purificada.

- ✓ Las muestras fueron transferidos a viales de 1 mL donde estas muestras servirán para hacer el análisis en el HPLC.
- ✓ La identificación de las antocianidinas por Cromatografía Líquida de Alta Resolución o *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC), se realizó en un rango de tiempo de 30 minutos para cada una de las muestras, una vez obtenida los cromatogramas y tiempos de retención se procedió hacer la comparación con los patrones que existen de los frutos de las plantas uva y fresa que nos ayudó a identificar los picos del cromatograma de los frutos en estudio.

Figura 03: FLUJOGRAMA PROCEDIMENTAL PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LAS ANTOCIANIDINAS POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (HPLC).



Fuente: Elaboración propia.

IDENTIFICACIÓN DE ANTOCIANIDINAS POR HPLC

El HPLC es el método más común para realizar el análisis de antocianidinas. La muestra fue purificada usando un cartucho C-18 y la fracción fenólica (conteniendo antocianinas) fue eluida con metanol acidificado con HCl 1%, se utilizó agua acidificada con HCl 0.01% para lograr un volumen conocido.

La separación de las antocianidinas se llevó a cabo en una columna C-18 eclipse XDB-C18 (2.1 mm x 15 mm, 5 μ m) usando un sistema HPLC AGILENT TECHNOLOGIES, equipado con un detector con arreglo de diodos (DAD).

La presión de trabajo fue de 400 bar el máximo, el rango de flujo fue de 0.5 mL/min; la fase móvil fue una mezcla de eluyente A (ácido fórmico al 7% en agua grado HPLC) y B (acetonitrilo al 7%); la gradiente a utilizar fue: 0 min 96%A y 4% de B; 2 min 96% A y 4% B; 2.01 min 92% A y 8% B; 3 min 92% y 8% B: 4.01 min 88% A y 12% B; 20 min 84% A y 16% B; 25 min 84% A y 16% B: 25.01 min 0.0% A y 100% B y a los 30.01 min 96% A y 4% B.

Se estableció un rango de flujo adecuado para obtener la separación adecuada de las antocianidinas presentes y se monitorizo a 520 nm, con un volumen de inyección de 5 μ L de muestra.

Se estableció como rango de flujo 0.5 mL/min, usando como fase móvil dos solventes:

A: ácido fórmico al 7% en agua de grado HPLC y B: acetonitrilo al 7%.

Cuadro 07: Preparación de los gradientes.

Tiempo (min)	Porcentaje de A	Porcentaje de B
0.00	96.00	4.00
2.00	96.00	4.00
2.01	92.00	8.00
3.00	92.00	8.00
4.01	88.00	12.00
20.00	84.00	16.00
25.00	84.00	16.00
25.01	0.00	100.00
30.01	96.00	4.00

Fuente: Elaboracion propia.

Cuadro 08: Condiciones para el análisis de HPLC.

INSTRUMENTO	HPLC con detector DAD
COLUMNA	Eclipse XDB-C18 column, 2.1 mm x 15 mm, 5 um) <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center; margin-top: 5px;"> <div style="text-align: center;">↓ Tipo</div> <div style="text-align: center;">↓ Diámetro de la columna</div> <div style="text-align: center;">↓ Longitud de la columna</div> <div style="text-align: center;">↓ Tamaño de la esfera de relleno</div> </div>
RANGO DE FLUJO	0.5 mL/min
FASE MOVIL	A: ácido fórmico al 7% en agua de grado HPLC y B: acetonitrilo al 7%.
GRADIENTE	0 min 96%A y 4% de B; 2 min 96% A y 4% B; 2.01 min 92% A y 8% B; 3 min 92% y 8% B: 4.01 min 88% A y 12% B; 20 min 84% A y 16% B; 25 min 84% A y 16% B: 25.01 min 0.0% A y 100% B y a los 30.01 min 96% A y 4% B.

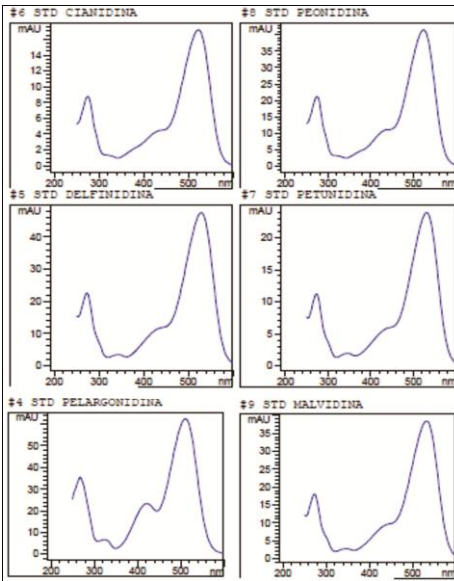
Fuente: Elaboracion propia.

La identificación de los picos del cromatograma de los frutos en estudio fue realizada en base a la comparación de los cromatogramas de los frutos de las plantas de uva y fresa, corridos bajo las mismas condiciones especificadas.

Los 5 aglicones (antocianidinas) patrón fueron de las especies *Vitis vinífera* (Uva), y son cianidina, delphinidina, malvidina, peonidina y petunidina, en tanto que la antocianidina presente en *Fragaria vesca* (Fresa) es la pelargodina que no se encuentra presente en la *Vitis vinífera* (Uva).

REPORTE DE RESULTADOS:

Cuadro 09: Reporte de resultados de la identificación de las antocianidinas por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).

MUESTRAS DE LOS FRUTOS	PATRONES PARA COMPARAR CROMATOGRAMAS PARA IDENTIFICAR EL TIPO DE ANTOCIANIDINA	TIPO DE ANTOCIANIDINA IDENTIFICADA
<p><i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltdl (CAPACHU)</p>		<p>✓ ----- ✓ ----- ✓ -----</p>
<p><i>Berberis cummutata</i> Eichler (HUANCACHU)</p>		<p>✓ ----- ✓ ----- ✓ -----</p>
<p><i>Berberis humbertiana</i> J.F. Macbr (CHEQCHE)</p>		<p>✓ ----- ✓ ----- ✓ -----</p>
<p><i>Vaccinium floribundum</i> Kunth (ALAYBILÍ)</p>		<p>✓ ----- ✓ ----- ✓ -----</p>

Fuente: Elaboración propia.

2.4.2. MÉTODO PARA LA CUANTIFICACIÓN DEL TOTAL DE ANTOCIANINAS MEDIANTE EL MÉTODO DEL pH DIFERENCIAL.

Para cuantificar el contenido total de antocianinas se aplicó la metodología descrita por **Giusti y Wrolstad (2001)**, a través del método del pH diferencial, ésta se describe de la siguiente forma:

FUNDAMENTO

Las antocianinas desarrollan transformaciones estructurales reversibles con el cambio de pH manifestado por el espectro a diferentes absorbancias. La forma de oxonio coloreado predomina a pH 1 y la forma hemiacetal incolora a pH 4.5.

El método de pH diferencial se basa en esta reacción y permite segura y rápidamente medir el total de antocianinas monoméricas, incluso en presencia de pigmentos degradados, polimerizados y otros componentes interferentes.

Se utilizó un espectrofotómetro UV-visible, las mediciones fueron realizadas a 520 nm (máxima longitud de onda determinada) y a 700 nm.

El contenido de antocianinas monoméricas fue calculado como Cianidina -3-glucósido, usando como coeficiente de extinción molar $26900 \text{ l} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$ y como peso molecular $449.6 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$.

PREPARACIÓN DE BUFFERS

- ✓ **Buffer pH 1.0 (cloruro de potasio 0.025 M):** Pesar 1.86 g de KCl en un beaker, agregar agua destilada hasta los 980 mL. Medir el pH y ajustar a 1.0, con HCl concentrado (toma alrededor de 6.3 mL). Transferir a una probeta de 1 l y enrasar con agua destilada.

- ✓ **Buffer pH 4.5 (acetato de sodio 0.4 M):** Pesar 54.43 g de $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ en un beaker, agregar 960 mL de agua destilada. Medir el pH y ajustar a 4.5, con HCl concentrado (toma alrededor de 20 mL). Transferir a una probeta de 1 l y enrasar con agua destilada.

PROCEDIMIENTO

- ✓ Se pesó una cantidad conocida (0.5 g) de frutos deshidratados de las especies en estudio.
- ✓ Las muestras fueron triturados con un mortero, finalizada la operación las muestras trituradas fueron transferidas a matraces de 100 mL.
- ✓ Se adicionó disolvente extractor (etanol 95%, ácido clorhídrico 0.1 N en proporción 85:15) y se aforó a volumen conocido (50 mL) de solución y se dejó macerar en un tiempo suficiente hasta que el solvente se sature, de esta forma se realizó la extracción solido-liquido de antocianinas.
- ✓ Se filtró las muestras maceradas utilizando papel Whatman N° 1.
- ✓ Las muestras filtradas fueron transferidas 5 mL a un beaker de 50 mL, posteriormente se midió las absorbancias de las muestras y dicha absorbancia se debe encontrarse por debajo de 0.8 y así cumplir con la ley de Beer, para ello las muestras que se encontraban por encima de 0.8 fueron diluidas.
- ✓ Se determinó el factor de dilución apropiado para cada una de las muestras mediante la dilución con el buffer de cloruro de potasio pH 1 hasta que la absorbancia de cada una de las muestras a la máxima longitud de onda se encuentre dentro del rango lineal del espectrofotómetro. Se divide el volumen final de la muestra entre el volumen inicial para obtener el factor de dilución.

- ✓ Se prepararon 2 diluciones de cada una de las muestras, una usando el buffer cloruro de potasio pH 1, y la otra usando buffer acetato de sodio pH 4.5, diluyendo cada uno con el factor de dilución previamente determinado. Dejando equilibrar estas diluciones durante 15 minutos.
- ✓ Se midió la absorbancia de cada dilución y la máxima longitud de onda determinada, en nuestro caso a 520nm y a 700nm, usando como blanco agua destilada, todas las lecturas se realizaron entre 15 y 60 minutos luego de realizada la preparación.
- ✓ Se calculó la absorbancia de la muestra diluida con la siguiente formula:

$$A = (A_{\lambda_{vis-max}} - A_{700nm})_{pH\ 1.0} - (A_{\lambda_{vis-max}} - A_{700nm})_{pH\ 4.5}$$

Donde:

$A_{\lambda_{vis-max}}$: Lectura del pico más alto a pH 1.0 y pH 4.5

A_{700nm} : Lectura a 700nm a pH 1.0 y pH 4.5

- ✓ Se calculó la concentración de antocianinas usando la siguiente formula:

$$\text{Contenido de antocianinas (p/p)} = (A/\epsilon L) * MW * DF * (V/Wt)$$

Donde:

A : Absorbancia de la muestra.

MW : Peso molecular de la Cianidina-3-glucosido (449.6 g/mol).

DF : Factor de dilución.

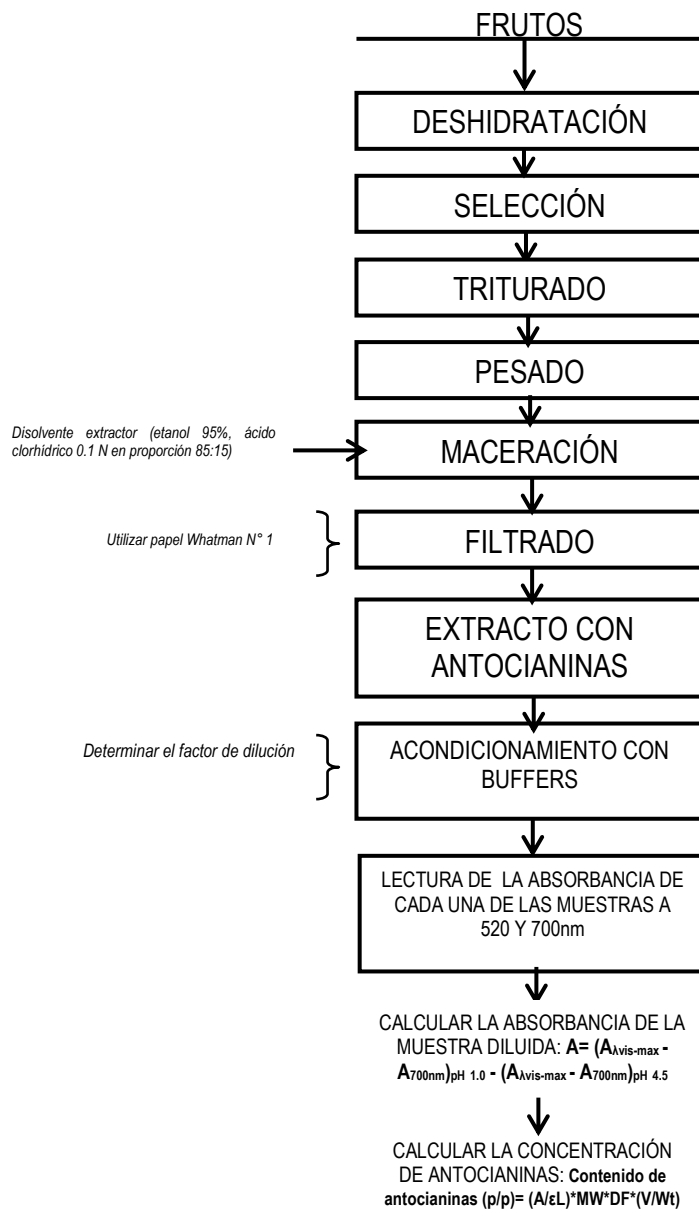
V : Volumen final en l.

Wt : Peso de la muestra en g.

ϵ : Coeficiente de extinción molar de la Cianidina-3-glucosido (26900 l*
cm⁻¹ * mol⁻¹).

L : Grosor de la cubeta (1 cm).

Figura 04: FLUJOGRAMA PROCEDIMENTAL PARA LA CUANTIFICACIÓN DEL TOTAL DE ANTOCIANINAS MEDIANTE EL MÉTODO DEL pH DIFERENCIAL.



Fuente: Elaboración propia.

REPORTE DE RESULTADOS:

Cuadro 10: Reporte de resultados de la cuantificación del total de antocianinas mediante el método del pH diferencial.

MUESTRAS DE LOS FRUTOS	ECUACIONES UTILIZADOS PARA CALCULAR EN CONTENIDO DE ANTOCIANINAS (p/p)	CONTENIDO DE ANTOCIANINA (mg/100 g muestra)
<i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltldl (CAPACHU)		✓ --(mg/100 g)
<i>Berberis cummutata</i> Eichler (HUANCACHU)	$A = (A_{\lambda_{vis-max}} - A_{700nm})_{pH\ 1.0} - (A_{\lambda_{vis-max}} - A_{700nm})_{pH\ 4.5}$	✓ --(mg/100 g)
<i>Berberis humbertiana</i> J.F. Macbr (CHEQCHE)	Contenido de antocianinas (p/p) = $(A/\epsilon L) * MW * DF * (V/Wt)$	✓ --(mg/100 g)
<i>Vaccinium floribundum</i> Kunth (ALAYBILÍ)		✓ --(mg/100 g)

Fuente: Elaboración propia.

2.4.3. MÉTODO PARA LA EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DE ANTOCIANINAS PRESENTES EN LOS FRUTOS *Hesperomeles escalloniifolia* Schltldl (CAPACHU), *Berberis cummutata* Eichler (HUANCACHU), *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (CHEQCHE) Y *Vaccinium floribundum* Kunth (ALAYBILÍ).

Para evaluar la estabilidad de antocianinas de los frutos se aplicó el método utilizado por Fuentes (2005), describiendo de la siguiente forma:

FUNDAMENTO

La estabilidad de las antocianinas depende de factores como pH, Temperatura, oxígeno, luz, metales, etc., pero sin embargo los factores que influyen directamente en la estabilidad son el pH y la temperatura, las antocianinas tienen cambios importantes de

color con las variaciones de pH, cuando el pH es ácido su color es rojo intenso mientras que a pH neutro se encuentra de manera incolora y a pH alcalino su coloración es amarilla y pasa posteriormente a ser azul (Cuevas *et al.*, 2008).

Los tratamientos térmicos influyen significativamente en la destrucción de las antocianinas; es así como se ha visto que en las fresas se presenta una relación logarítmica entre la pérdida de color y la temperatura (Badui, 1993).

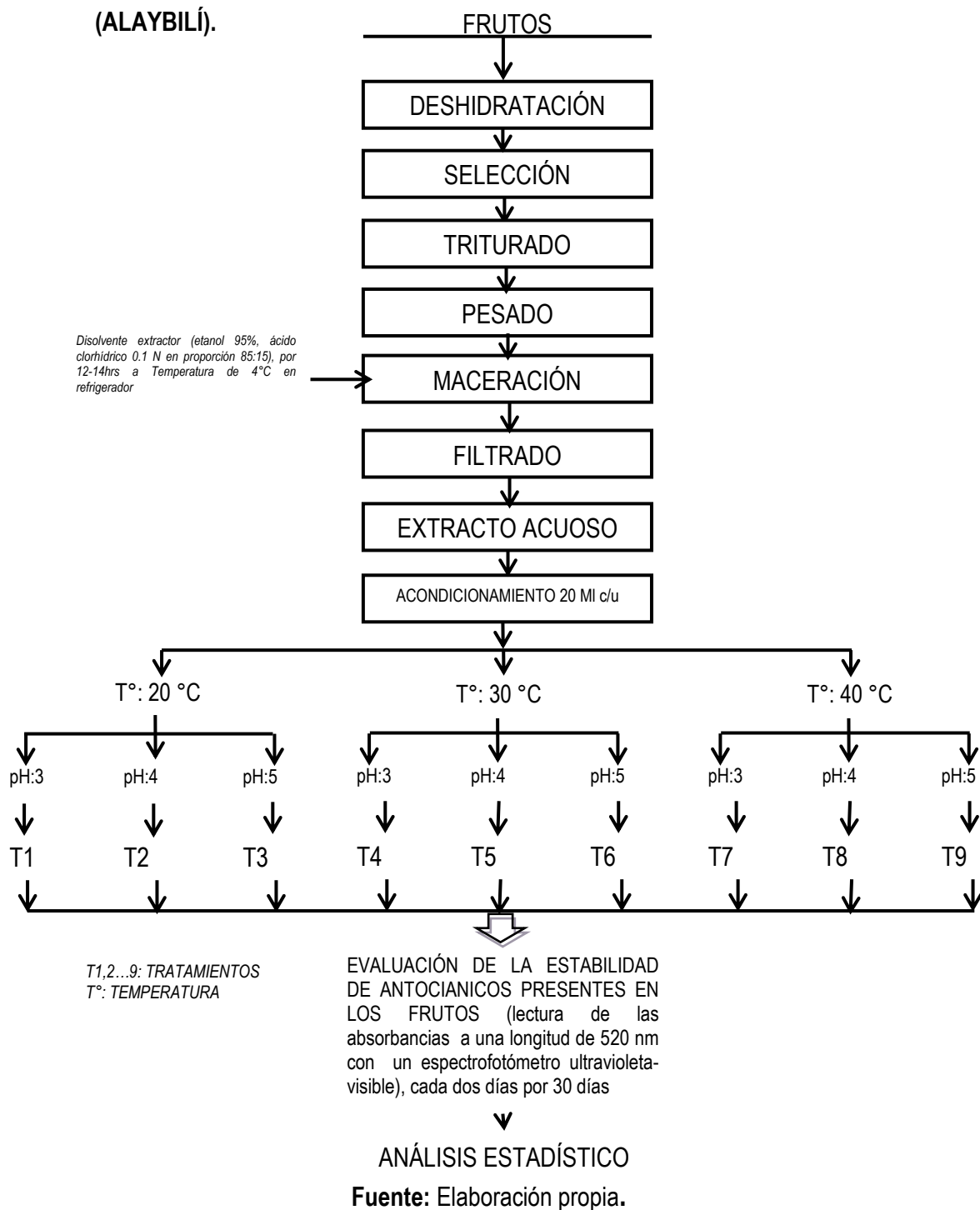
Para evaluar la estabilidad de antocianinas presentes en los frutos, se evaluaron a diferentes condiciones de pH y temperatura; como valores de pH (3,4 y 5) y valores de temperatura (20, 30 y 40°C).

PROCEDIMIENTO SEGÚN FUENTES, (2005).

- ✓ Se pesó una cantidad conocida de frutos deshidratados de las especies en estudio.
- ✓ Las muestras fueron triturados con un mortero, finalizada la operación las muestras trituradas fueron transferidas a matraces de 250 mL.
- ✓ Se adicionó disolvente extractor (etanol 95%, ácido clorhídrico 0.1 N en proporción 85:15) y se aforó a volumen conocido (250 mL) de solución y se dejó macerar en un tiempo suficiente 12 -14 horas a temperatura de 4 °C, de esta forma se realizó la extracción solido-liquido de antocianinas.
- ✓ Se filtró las muestras maceradas utilizando papel Whatman N° 1.
- ✓ Las muestras filtradas fueron transferidas a los beaker de 100 mL, posteriormente se midió las absorbancias de las muestras y dicha absorbancia se debe encontrarse por debajo de 0.8 y así cumplir con la ley de Beer, para ello las muestras que se encontraban por encima de 0.8 fueron diluidas utilizando el solvente extractor.

- ✓ De las muestras se midieron sus pHs y luego se acondicionó a pH: 3, pH: 4 y pH: 5 con hidróxido de sodio (NaOH a 0.1 N), posteriormente las muestras fueron transferidas a botellas de vidrio de 15 mL, finalmente las botellas con muestras fueron rotulados y sellados.
- ✓ El acondicionamiento de temperatura fueron en incubadoras de 20, 30 y 40 °C, las muestras fueron acondicionadas a estas temperaturas.
- ✓ La estabilidad de las antocianinas se evaluó mediante la lectura de las absorbancias a una longitud de 520 nm, dichas lecturas se realizarón cada dos días por 30 días.

Figura 05: FLUJOGRAMA PROCEDIMENTAL PARA LA EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DE ANTOCIANINAS PRESENTES EN LOS FRUTOS *Hesperomeles escalloniifolia* Schltdl (CAPACHU), *Berberis cummutata* Eichler (HUANCACHU), *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (CHEQCHE) Y *Vaccinium floribundum* Kunth (ALAYBILÍ).



REPORTE DE RESULTADOS:

Cuadro 11: Reporte de resultados de la Evaluación de la estabilidad de antocianinas presentes en los frutos *Hesperomeles escalloniifolia* Schltdl (Capachu), *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu), *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) Y *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybili)..

MUESTRAS DE LOS FRUTOS	EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DE CADA UNA DE LAS MUESTRAS	LECTURA DE LAS ABSORBANCIAS DE LOS 30 DIAS Y Δ Abs	ANÁLISIS ESTADÍSTICO ANOVA
<i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltdl (CAPACHU)			
<i>Berberis cummutata</i> Eichler (HUANCACHU)			
<i>Berberis humbertiana</i> J.F. Macbr (CHEQCHE)			
<i>Vaccinium floribundum</i> Kunth (ALAYBILÍ)			

Fuente: Elaboración propia.

2.4.4. METODOLOGÍA DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

DISEÑO FACTORIAL 3x3: 3²

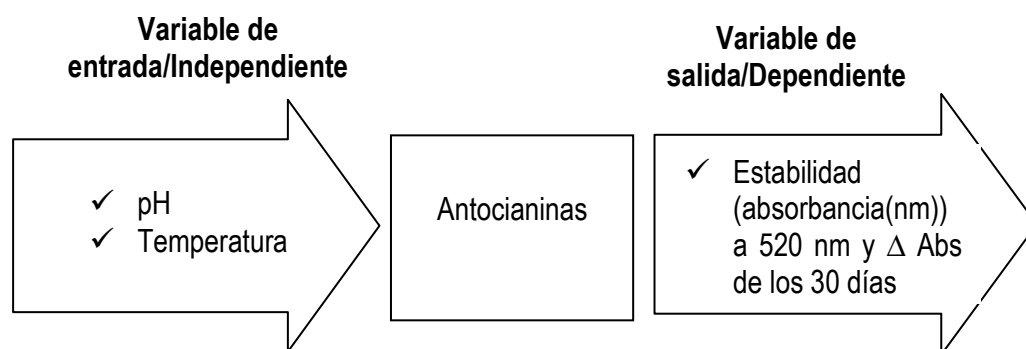
El diseño experimental, consistente en 3², igual a 9 tratamientos diferentes, que corresponde a todas las posibles maneras en que se pueden combinar dos factores pH y temperatura (T°), cada uno con tres niveles.

En muchos experimentos se interviene el estudio de los efectos de dos o más factores, por diseño factorial se entiende, que en cada ensayo o réplica completa del experimento se investigan todas las combinaciones posibles de los niveles de los factores, por ejemplo, si el factor A tiene a niveles y el factor B tiene b niveles, cada réplica contiene

todas las *ab* combinaciones de los tratamientos. Cuando los factores están incluidos en un diseño factorial, es común decir que están cruzados (Montgomery, 2004).

En esta investigación se consideraron los siguientes variables: variables de entrada o independiente: el pH y Temperatura, en el que se considerará los siguientes niveles pH: 3; 4 y 5 y Temperatura: 20, 30 y 40 °C, como variable de respuesta, salida o dependiente: Estabilidad (absorbancia (nm)), realizada lectura de las absorbancias a 520 nanómetros.

Figura 06: Diagrama de contrastación y variables



La interacción de las variables (tratamientos) se analizaron mediante el análisis de varianza (ANOVA).

Los nueve tratamientos se expresaron en el siguiente cuadro.

Cuadro 12: Matriz de diseño experimental

N° Tratamiento	pH	Temperatura (°C)	Estabilidad de antocianinas Absorbancia (nm) a longitud de onda a 520nm y Δ Abs de los 30 días
1	3	20	
2	4	20	
3	5	20	
4	3	30	
5	4	30	
6	5	30	
7	3	40	
8	4	40	
9	5	40	

Fuente: Elaboración propia.

El modelo estadístico para el diseño 3^2 corresponde al diseño individual de cada factor en la ecuación 01 según Gutiérrez, (2008).

$$Y_{ij} = \mu + \gamma_i + \delta_j + (\gamma\delta)_{ij} + \varepsilon_{ijk} \dots \dots \dots Ec (01)$$

Con: $i = 1,2,3$; $j = 1,2,3$; $k = 1, \dots, n$.

Donde:

μ : Media general.

γ_i : Efecto del factor A con su nivel i.

δ_j : Efecto del factor B con su nivel j.

$(\gamma\delta)_{ij}$: Efecto de la interacción de ambos tratamientos en los niveles ij.

ε_{ijk} : Error aleatorio, que se supone que sigue una distribución normal con media cero varianza constante $\sigma^2(N(0, \sigma^2))$ y son independientes entre si.

n : Número de repeticiones en cada tratamiento.

✓ **Variables independientes:**

Indicadores:

- pH con 3 niveles 3, 4 y 5.
- Temperatura (T) en °C con 3 niveles 20, 30 y 40 °C.

✓ **Variable dependiente:** Estabilidad de antocianinas presentes en los frutos.

Indicadores:

- Absorbancia (nm) a longitud de onda a 520 nm y Δ Abs de los 30 días.

HIPÓTESIS EXPERIMENTALES:

Se estimó las siguientes hipótesis sobre estabilidad de antocianinas presentes en los frutos: pH, temperatura (T) y la interacción del pH y temperatura (pH – T) mediante el análisis de varianza (ANOVA).

Respecto al pH

- ✓ **Hipótesis nula (Ho):** Si el P valor del pH es mayor a 0.05, entonces el pH no influye en la estabilidad de antocianinas presentes en los frutos.
- ✓ **Hipótesis alterna (Ha):** Si el P valor del pH es menor a 0.05, entonces el pH influye en la estabilidad de antocianinas presentes en los frutos.

Respecto a la temperatura (T)

- ✓ **Hipótesis nula (Ho):** Si el P valor de la T es mayor a 0.05, entonces la T no influye en la estabilidad de antocianinas presentes en los frutos.
- ✓ **Hipótesis alterna (Ha):** Si P valor de la T es menor a 0.05, entonces la T influye en la estabilidad de antocianinas presentes en los frutos.

Respecto a la interacción de pH y la temperatura (T)

- ✓ **Hipótesis nula (Ho):** Si el P valor de la interacción pH – T es mayor a 0.05, entonces se deduce que la interacción no influye en la estabilidad de antocianinas presentes en los frutos.
- ✓ **Hipótesis alterna (Ha):** Si el P valor de la interacción pH – T es menor a 0.05, entonces se deduce que la interacción influye en la estabilidad de antocianinas presentes en los frutos.

III. RESULTADOS

3.1. RESULTADOS DE LA IDENTIFICACIÓN DE LAS ANTOCIANIDINAS POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (HPLC).

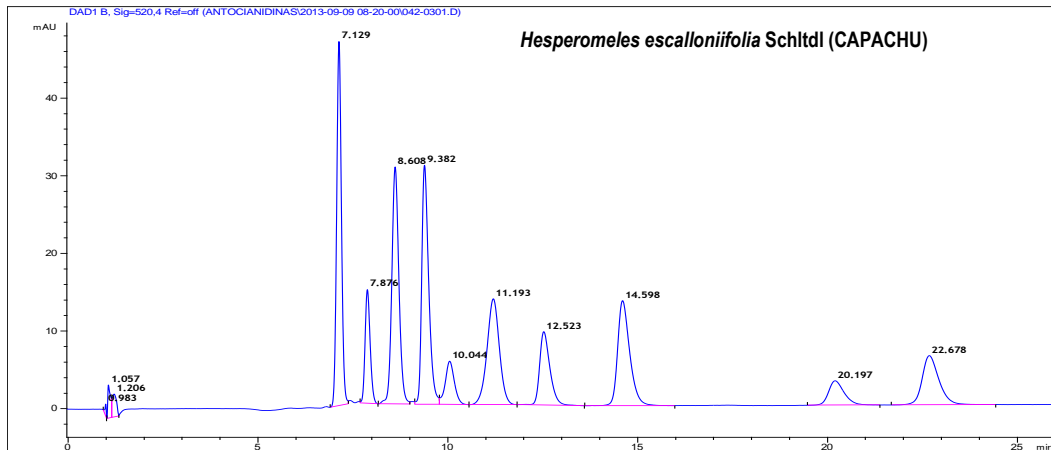
Las muestras fueron analizadas por HPLC bajo las condiciones establecidas en el **Cuadro 08**, después del análisis se obtuvo cromatogramas para cada uno de las muestras, para determinar la identidad de los picos presentes en el cromatograma obtenido, se realizó la comparación con los cromatogramas de los frutos de las plantas uva y fresa, que fueron experimentados bajo las mismas condiciones especificadas anteriormente para tener patrones de comparación que ayudaron a identificar los picos del cromatograma de los frutos en estudio.

Los cinco aglicones (antocianidinas) patrón fueron de las especies *Vitis vinifera* (Uva) y son cianidina, delphinidina, malvidina, peonidina y petunidina, en tanto que la antocianidina presente en *Fragaria vesca* (Fresa) es la pelargonidina que no se encuentra presente en la *Vitis vinifera* (Uva), por lo tanto tuvimos 6 patrones de antocianidinas que se utilizaron para la comparación de las cromatogramas de las plantas en estudio.

3.1.1. RESULTADOS DE LA IDENTIFICACIÓN DE LAS ANTOCIANIDINAS DE *Hesperomeles escalloniifolia* Schltidl (CAPACHU) POR CROMATOGRAFÍA LIQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (HPLC).

En *Hesperomeles escalloniifolia* Schltidl (Capachu) se encontró 10 picos como se muestra en el cromatograma en la figura 07, por lo tanto esta planta en su fruto tiene 10 tipos de antocianidinas.

Figura 07: Cromatograma de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltdl (Capachu).

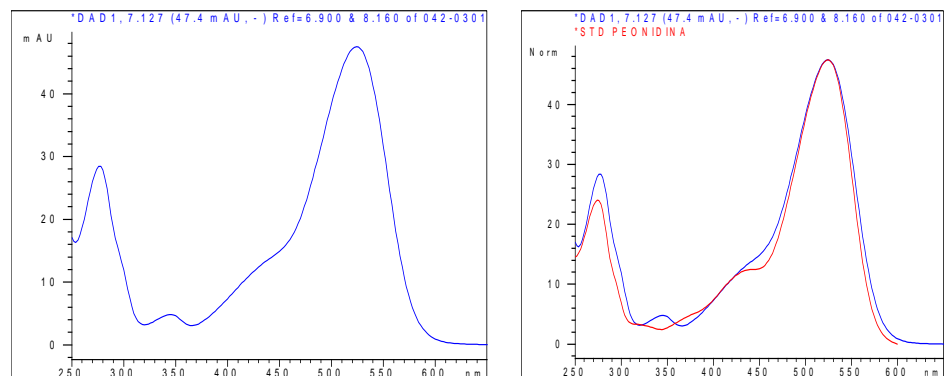


A). COMPARACIÓN DE LOS PICOS CON PATRONES PARA DETERMINAR LA IDENTIDAD

Para identificar las antocianidinas se realizó la comparación de los picos presentes en el cromatograma de la *Hesperomeles escalloniifolia* Schltdl (Capachu) con los patrones obtenidos de las especies (uva, fresa) de la siguiente manera:

✓ COMPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DEL PRIMER PICO

Figura 08: Primer pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (peonidina).



Interpretación: El primer pico fue retenido en el tiempo 7.129 minutos y se encuentra en un 16.3414 % del total de las antocianidinas presente en el fruto de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltdl (Capachu), este pico fue comparado con patrón antocianidina (peonidina) por que presentó mayor similitud en

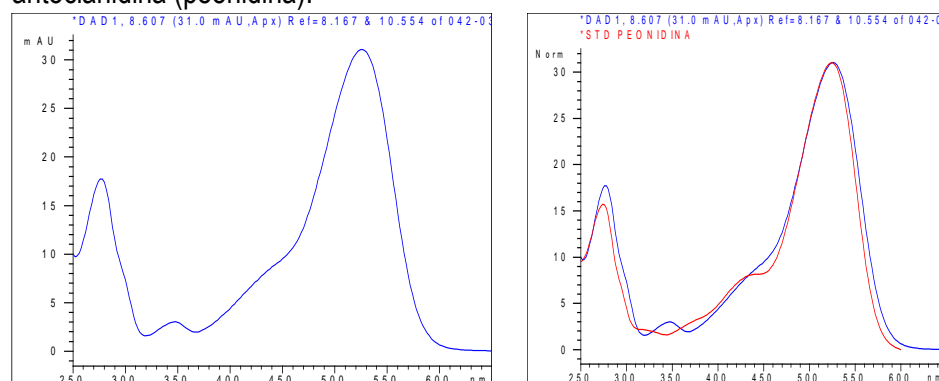
comparación con las otras antocianidinas, hecha la comparación con el patrón no coincide como se muestra en la **figura 08** el pico de la muestra es de color azul y la del patrón antocianidina (peonidina) es de color rojo, por lo tanto este pico no fue identificado.

✓ **COMPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DEL SEGUNDO PICO**

Interpretación: El segundo pico fue retenido en el tiempo 7.876 minutos y se encuentra en un 5.4496 % del total de las antocianidinas presente en el fruto de ***Hesperomeles escalloniifolia*** Schltdl (Capachu), este pico no fue comparado con ningún patrón antocianidina por que no presentó ninguna similitud, por lo tanto este pico no fue identificado.

✓ **COMPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DEL TERCER PICO**

Figura 09: Tercer pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (peonidina).

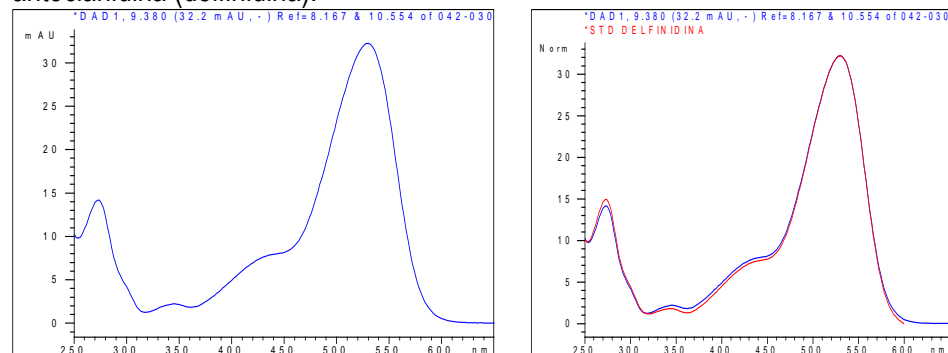


Interpretación: El tercer pico fue retenido en el tiempo 8.608 minutos y se encuentra en un 15.8197 % del total de las antocianidinas presente en el fruto de ***Hesperomeles escalloniifolia*** Schltdl (Capachu), este pico fue comparado con patrón antocianidina (peonidina) por que presentó mayor similitud en comparación con las otras antocianidinas, hecha la comparación con el patrón

no coincide como se muestra en la **figura 09** el pico de la muestra es de color azul y la del patrón antocianidina (peonidina) es de color rojo, por lo tanto este pico no fue identificado.

✓ COMPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DEL CUARTO PICO

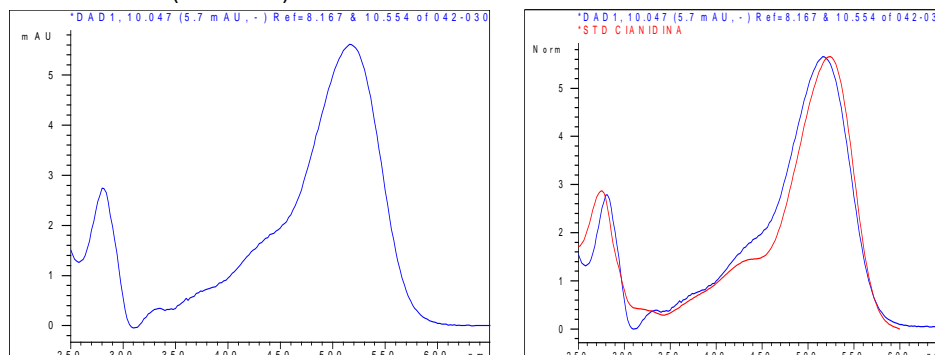
Figura 10: Cuarto pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (delfinidina).



Interpretación: El cuarto pico fue retenido en el tiempo 9.382 minutos y se encuentra en un 15.6670 % del total de las antocianidinas presente en el fruto de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltl (Capachu), este pico fue comparado con patrón antocianidina (delfinidina) por que presentó mayor similitud en comparación con las otras antocianidinas, hecha la comparación con el patrón coincide como se muestra en la **figura 10** el pico de la muestra es de color azul y la del patrón antocianidina (delfinidina) es de color rojo, por lo tanto este pico fue identificado y se puede decir que en el fruto de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltl (Capachu) existe la antocianidina (delfinidina) en un porcentaje de 15.6670 % del total de las antocianidinas.

✓ COMPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DEL QUINTO PICO

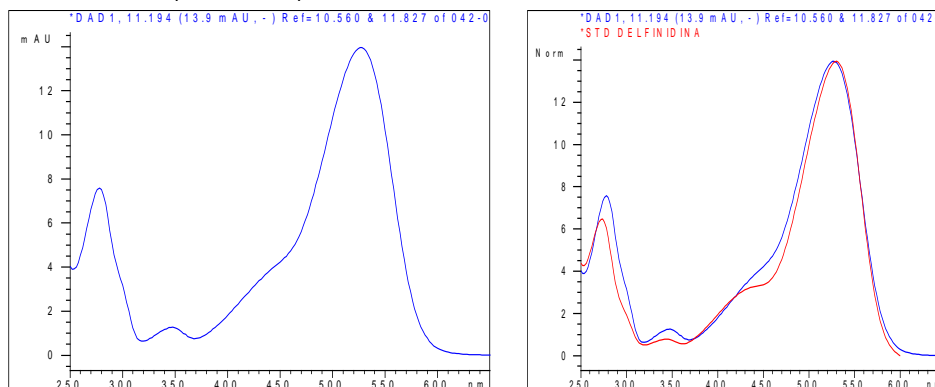
Figura 11: Quinto pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (cianidina).



Interpretación: El quinto pico fue retenido en el tiempo 10.043 minutos y se encuentra en un 3.7083 % del total de las antocianidinas presente en el fruto de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltdl (Capachu), este pico fue comparado con patrón antocianidina (cianidina) por que presentó mayor similitud en comparación con las otras antocianidinas, hecha la comparación con el patrón no coincide como se muestra en la **figura 11** el pico de la muestra es de color azul y la del patrón antocianidina (cianidina) es de color rojo, por lo tanto este pico no fue identificado.

✓ COMPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DEL SEXTO PICO

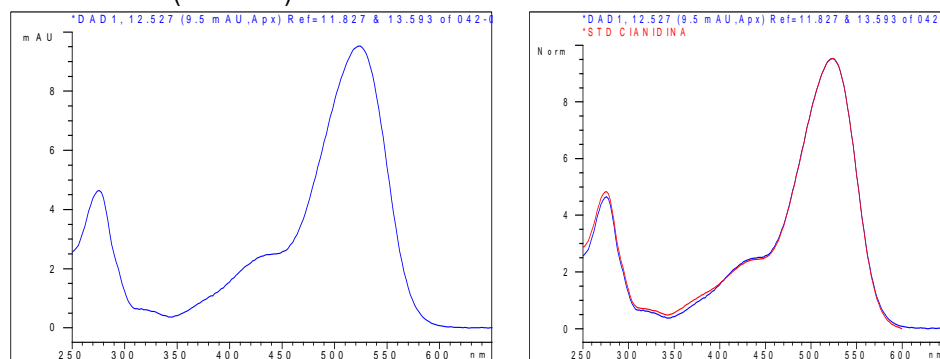
Figura 12: Sexto pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (delfinidina).



Interpretación: El sexto pico fue retenido en el tiempo 11.193 minutos y se encuentra en un 12.3675 % del total de las antocianidinas presente en el fruto de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltl (Capachu), este pico fue comparado con patrón antocianidina (delfinidina) por que presentó mayor similitud en comparación con las otras antocianidinas, hecha la comparación con el patrón no coincide como se muestra en la **figura 12** el pico de la muestra es de color azul y la del patrón antocianidina (delfinidina) es de color rojo, por lo tanto este pico no fue identificado.

✓ COMPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DEL SÉPTIMO PICO

Figura 13: Séptimo pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (cianidina).

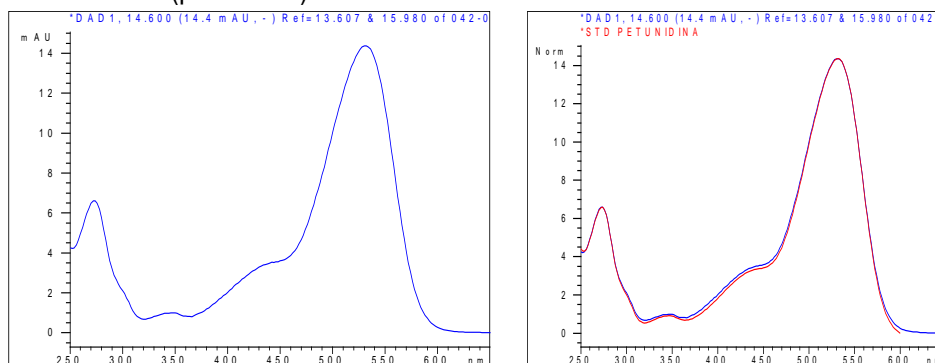


Interpretación: El séptimo pico fue retenido en el tiempo 12.523 minutos y se encuentra en un 7.1910 % del total de las antocianidinas presente en el fruto de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltl (Capachu), este pico fue comparado con patrón antocianidina (cianidina) por que presentó mayor similitud en comparación con las otras antocianidinas, hecha la comparación con el patrón coincide como se muestra en la **figura 13** el pico de la muestra es de color azul y la del patrón antocianidina (cianidina) es de color rojo, por lo tanto este pico fue identificado y se puede decir que en el fruto de *Hesperomeles*

escalloniifolia Schltl (Capachu) existe la antocianidina (cianidina) en un porcentaje de 7.1910 % del total de las antocianidinas.

✓ **COMPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DEL OCTAVO PICO**

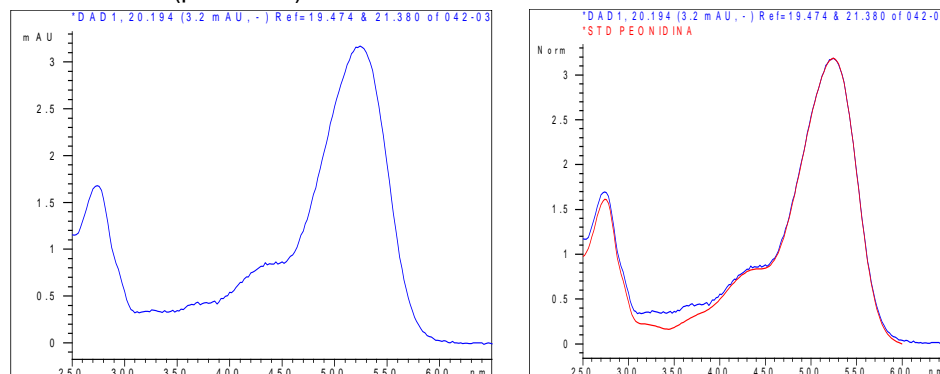
Figura 14: Octavo pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (petunidina).



Interpretación: El octavo pico fue retenido en el tiempo 14.599 minutos y se encuentra en un 11.9153 % del total de las antocianidinas presente en el fruto de **Hesperomeles escalloniifolia** Schltl (Capachu), este pico fue comparado con patrón antocianidina (petunidina) por que presentó mayor similitud en comparación con las otras antocianidinas, hecha la comparación con el patrón coincide como se muestra en la **figura 14** el pico de la muestra es de color azul y la del patrón antocianidina (petunidina) es de color rojo, por lo tanto este pico fue identificado y se puede decir que en el fruto de **Hesperomeles escalloniifolia** Schltl (Capachu) existe la antocianidina (petunidina) en un porcentaje de 11.9153 % del total de las antocianidinas.

✓ COMPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DEL NOVENO PICO

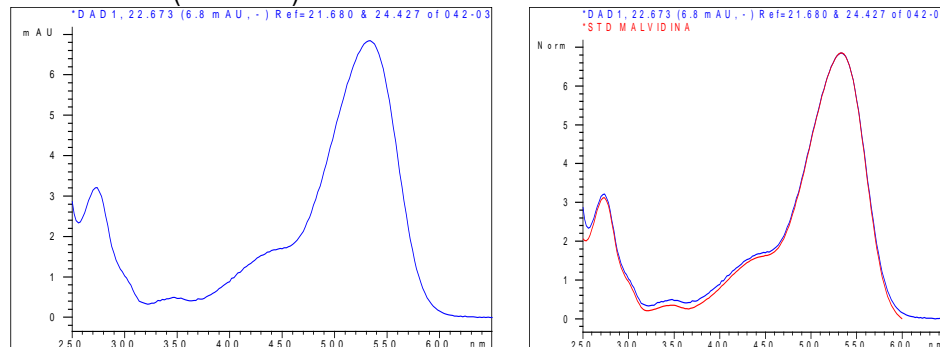
Figura 15: Noveno pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (peonidina).



Interpretación: El noveno pico fue retenido en el tiempo 20.198 minutos y se encuentra en un 3.6915 % del total de las antocianidinas presente en el fruto de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltdl (Capachu), este pico fue comparado con patrón antocianidina (peonidina) por que presentó mayor similitud en comparación con las otras antocianidinas, hecha la comparación con el patrón coincide como se muestra en la **figura 15** el pico de la muestra es de color azul y la del patrón antocianidina (petunidina) es de color rojo, por lo tanto este pico fue identificado y se puede decir que en el fruto de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltdl (Capachu) existe la antocianidina (peonidina) en un porcentaje de 3.6915 % del total de las antocianidinas.

✓ COMPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DEL DÉCIMO PICO

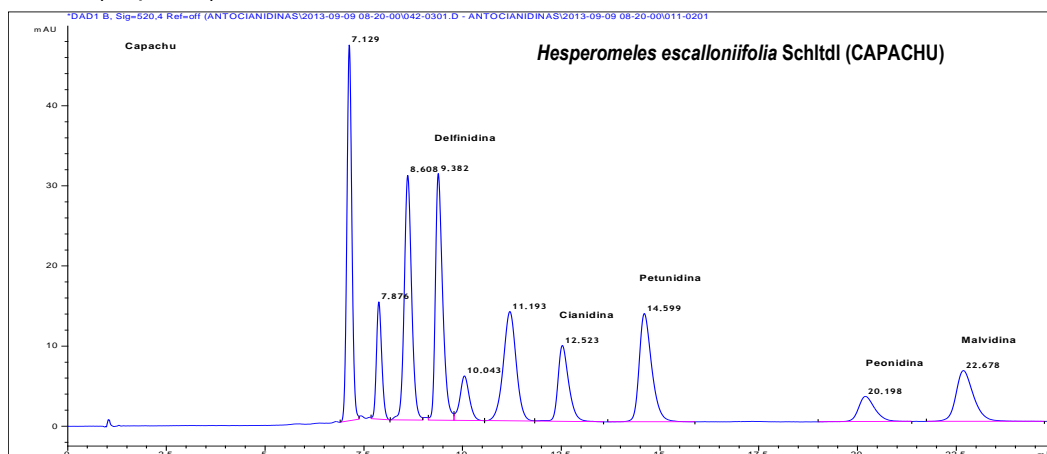
Figura 16: Décimo pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (malvidina).



Interpretación: El décimo pico fue retenido en el tiempo 22.678 minutos y se encuentra en un 7.8487 % del total de las antocianidinas presente en el fruto de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltdl (Capachu), este pico fue comparado con patrón antocianidina (malvidina) por que presentó mayor similitud en comparación con las otras antocianidinas, hecha la comparación con el patrón coincide como se muestra en la **figura 16** el pico de la muestra es de color azul y la del patrón antocianidina (malvidina) es de color rojo, por lo tanto este pico fue identificado y se puede decir que en el fruto de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltdl (Capachu) existe la antocianidina (malvidina) en un porcentaje de 7.8487 % del total de las antocianidinas.

B). CROMATOGRAMA CON PICOS IDENTIFICADOS DE *Hesperomeles escalloniifolia* Schltdl (CAPACHU).

Figura 17: Cromatograma con picos identificados de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltdl (Capachu).



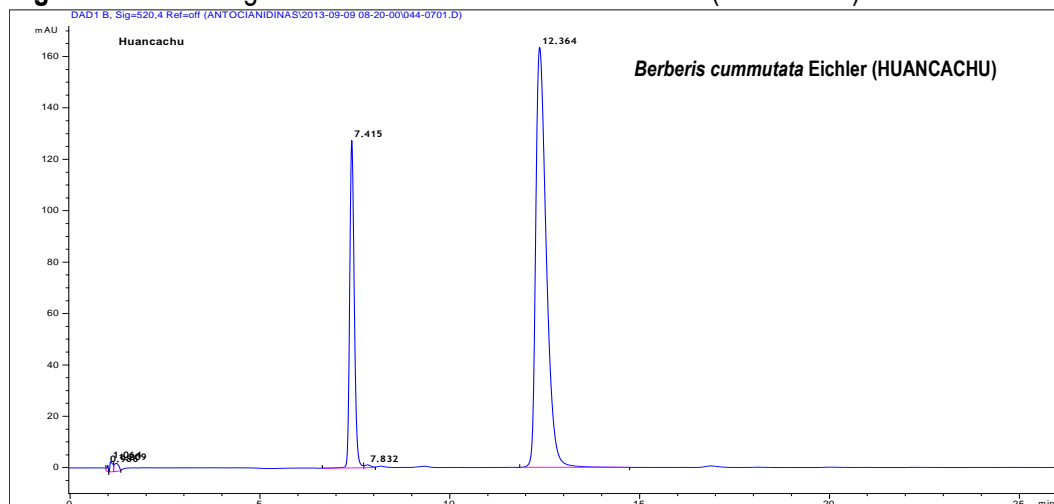
Interpretación: Después de haber realizado la comparación de todos los 10 picos presentes del cromatograma del *Hesperomeles escalloniifolia* Schltdl (Capachu) se identificaron 5 picos: **delfinidina** que fue retenida en un tiempo 9.382 minutos y se

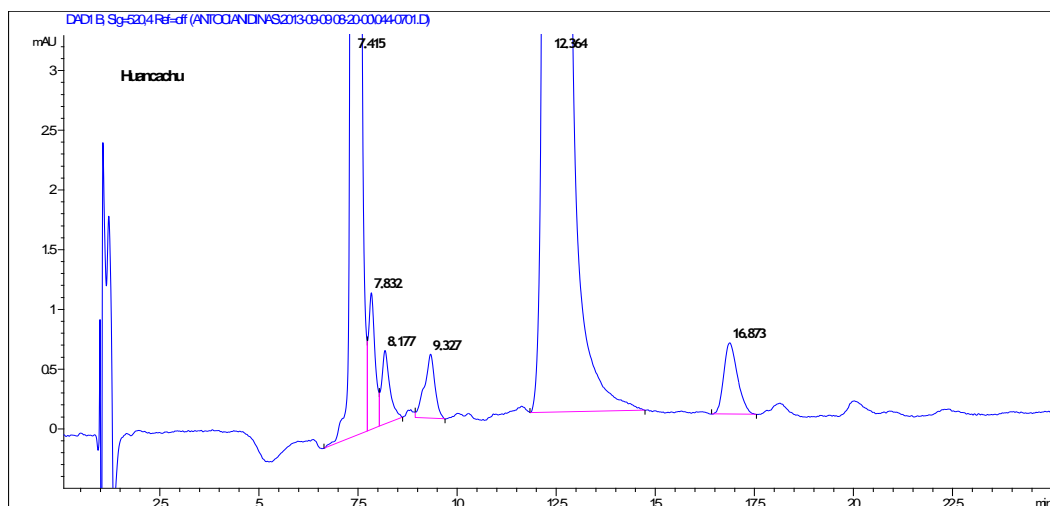
encuentra en 15.6670 %, **cianidina** que fue retenida en un tiempo 12.523 minutos y se encuentra en 7.1910 %, **petunidina** que fue retenida en un tiempo 14.599 minutos y se encuentra en 11.9153 %, **peonidina** que fue retenida en un tiempo 20.198 minutos y se encuentra en 3.6915 %, **malvidina** que fue retenida en un tiempo 22.678 minutos y se encuentra en 7.8487 %, de los otros 5 picos se desconoce su identidad por falta de patrones para realizar la comparación, los tiempos de retención y % de área de los picos del cromatograma de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltidl (Capachu) se muestran en anexo 19.

3.1.2. RESULTADOS DE LA IDENTIFICACIÓN DE LAS ANTOCIANIDINAS DE *Berberis cummutata* Eichler (HUANCACHU) POR CROMATOGRFÍA LIQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (HPLC).

En *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu) se encontró 6 picos como se muestra en cromatograma en la **figura 18**, por lo tanto esta planta en su fruto tiene 6 tipos de antocianidinas.

Figura 18: Cromatograma de *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu).



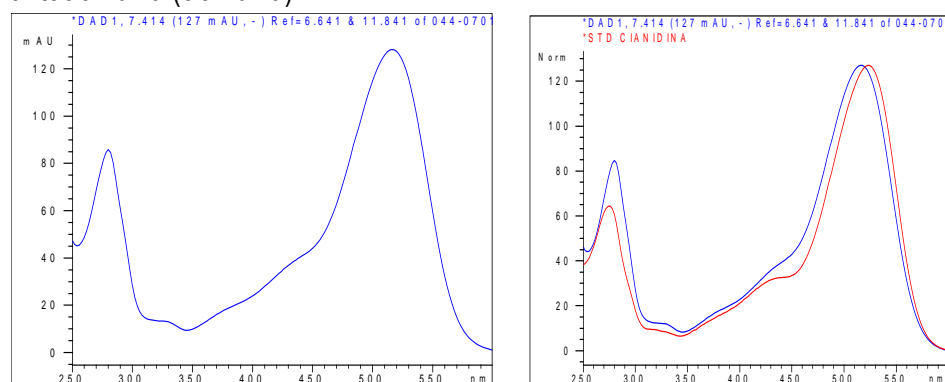


A). COMPARACIÓN DE LOS PICOS CON PATRONES PARA DETERMINAR LA IDENTIDAD

Para identificar las antocianidinas se realizó la comparación de los picos presentes en el cromatograma de la *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu) con los patrones obtenidos de las especies (uva, fresa) de la siguiente manera:

✓ COMPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DEL PRIMER PICO

Figura 19: Primer pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (cianidina).

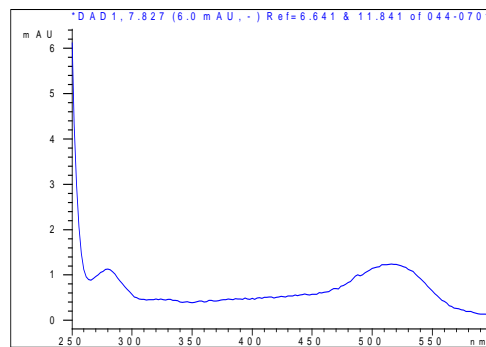


Interpretación: El primer pico fue retenido en el tiempo 7.415 minutos y se encuentra en un 24.8133 % del total de las antocianidinas presente en el fruto de *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu), este pico fue comparado con

patrón antocianidina (cianidina) por que presentó mayor similitud en comparación con las otras antocianidinas, hecha la comparación con el patrón no coincide como se muestra en la **figura 19** el pico de la muestra es de color azul y la del patrón antocianidina (cianidina) es de color rojo, por lo tanto este pico no fue identificado.

✓ COMPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DEL SEGUNDO PICO

Figura 20: Segundo pico del cromatograma.



Interpretación: El segundo pico fue retenido en el tiempo 7.832 minutos y se encuentra en un 0.3133 % del total de las antocianidinas presente en el fruto de ***Berberis cummutata*** Eichler (Huancachu), este pico no fue comparado con ningún patrón antocianidina por que no presentó ninguna similitud, por lo tanto este pico no fue identificado.

✓ COMPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DEL TERCER PICO

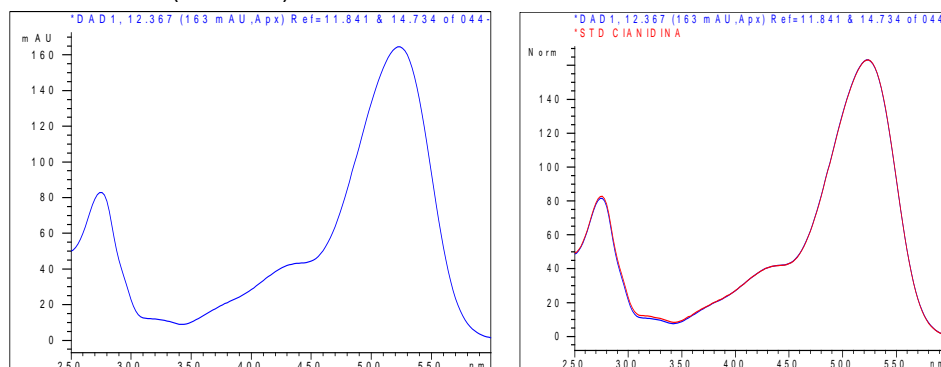
Interpretación: El tercer pico fue retenido en el tiempo 8.177 minutos y se encuentra en un 0.2097 % del total de las antocianidinas presente en el fruto de ***Berberis cummutata*** Eichler (Huancachu), este pico no fue comparado con ningún patrón antocianidina por que no presentó ninguna similitud, por lo tanto este pico no fue identificado.

✓ **COMPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DEL CUARTO PICO**

Interpretación: El cuarto pico fue retenido en el tiempo 9.327 minutos y se encuentra en un 0.2306 % del total de las antocianidinas presente en el fruto de *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu), este pico no fue comparado con ningún patrón antocianidina por que no presentó ninguna similitud, por lo tanto este pico no fue identificado.

✓ **COMPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DEL QUINTO PICO**

Figura 21: Quinto pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (cianidina).



Interpretación: El quinto pico fue retenido en el tiempo 12.364 minutos y se encuentra en un 74.0942 % del total de las antocianidinas presente en el fruto de *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu), este pico fue comparado con patrón antocianidina (cianidina) por que presentó mayor similitud en comparación con las otras antocianidinas, hecha la comparación con el patrón coincide como se muestra en la **figura 21** el pico de la muestra es de color azul y la del patrón antocianidina (cianidina) es de color rojo, por lo tanto este pico fue identificado y se puede decir que en el fruto de *Berberis cummutata* Eichler

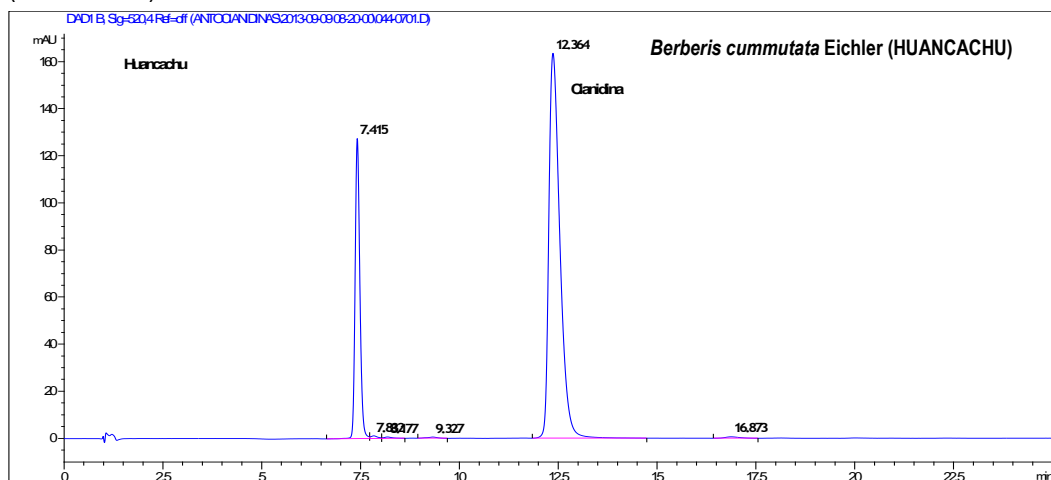
(Huancachu) existe la antocianidina (cianidina) en un porcentaje de 74.0942 % del total de las antocianidinas.

✓ **COMPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DEL SEXTO PICO**

Interpretación: El sexto pico fue retenido en el tiempo 16.873 minutos y se encuentra en un 0.3390 % del total de las antocianidinas presente en el fruto de *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu), este pico no fue comparado con ningún patrón antocianidina por que no presentó ninguna similitud, por lo tanto este pico no fue identificado.

B). CROMATOGRAMA CON PICOS IDENTIFICADOS DE *Berberis cummutata* Eichler (HUANCACHU)

Figura 22: Cromatograma con picos identificados de *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu).



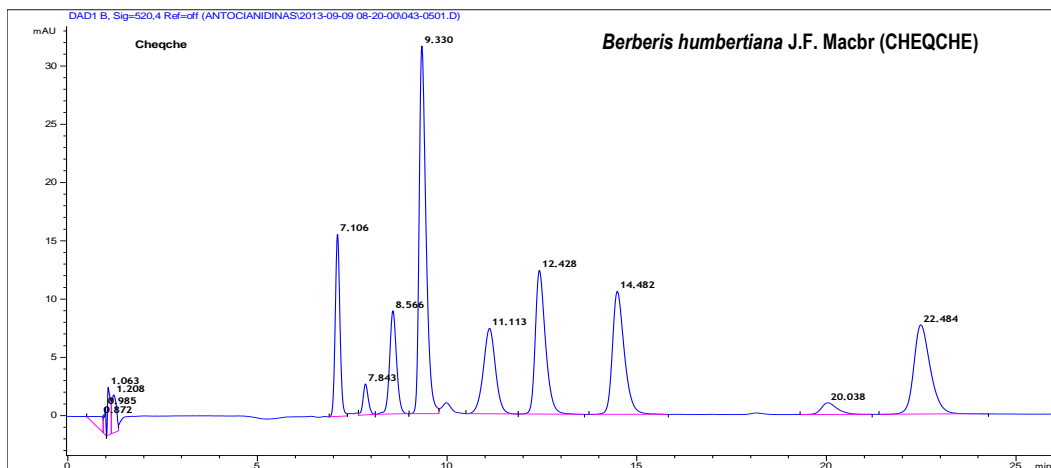
Interpretación: Después de haber realizado la comparación de todos los 6 picos presentes del cromatograma del *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu) se identificó solo un pico: **cianidina** que fue retenida en un tiempo 12.364 minutos y se encuentra en 74.0942 %, de los otros 5 picos se desconoce su identidad por falta de patrones para

realizar la comparación, los tiempos de retención y % de área de los picos del cromatograma de *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu) se muestran en anexo 20.

3.1.3. RESULTADOS DE LA IDENTIFICACIÓN DE LAS ANTOCIANIDINAS DE *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (CHEQCHE) POR CROMATOGRFÍA LIQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (HPLC).

En *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) se encontró 10 picos como se muestra en cromatograma en la **figura 23**, por lo tanto esta planta en su fruto tiene 10 tipos de antocianidinas.

Figura 23: Cromatograma de *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche).

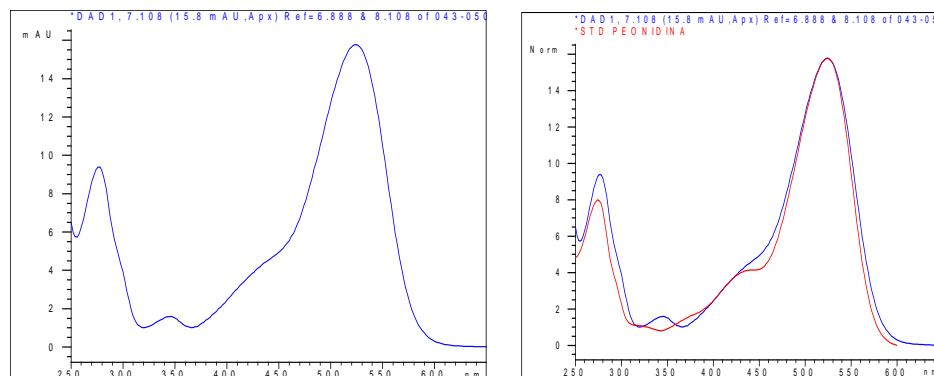


A). COMPARACIÓN DE LOS PICOS CON PATRONES PARA DETERMINAR LA IDENTIDAD

Para identificar las antocianidinas se realizó la comparación de los picos presentes en el cromatograma de la *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) con los patrones obtenidos de las especies (uva, fresa) de la siguiente manera:

✓ COMPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DEL PRIMER PICO

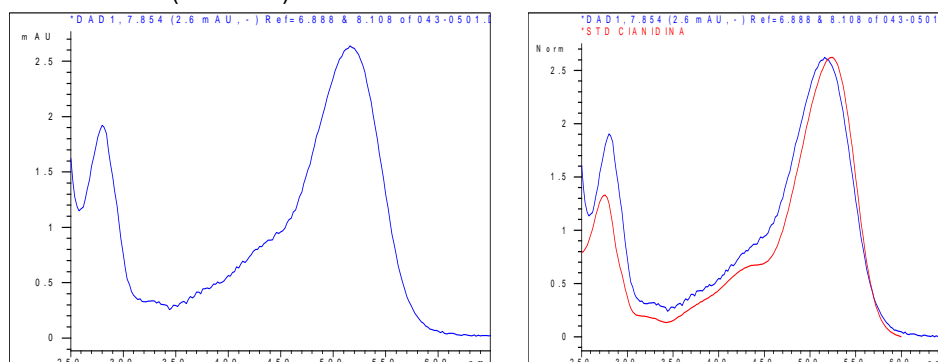
Figura 24: Primer pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (peonidina).



Interpretación: El primer pico fue retenido en el tiempo 7.106 minutos y se encuentra en un 8.5736 % del total de las antocianidinas presente en el fruto de *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche), este pico fue comparado con patrón antocianidina (peonidina) por que presentó mayor similitud en comparación con las otras antocianidinas, hecha la comparación con el patrón no coincide como se muestra en la **figura 24** el pico de la muestra es de color azul y la del patrón antocianidina (peonidina) es de color rojo, por lo tanto este pico no fue identificado.

✓ COMPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DEL SEGUNDO PICO

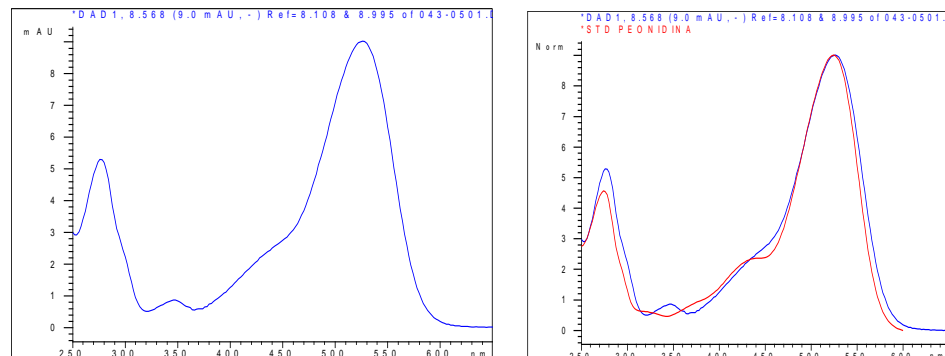
Figura 25: Segundo pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (cianidina).



Interpretación: El segundo pico fue retenido en el tiempo 7.843 minutos y se encuentra en un 1.6169 % del total de las antocianidinas presente en el fruto de *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche), este pico fue comparado con patrón antocianidina (cianidina) por que presentó mayor similitud en comparación con las otras antocianidinas, hecha la comparación con el patrón no coincide como se muestra en la **figura 25** el pico de la muestra es de color azul y la del patrón antocianidina (peonidina) es de color rojo, por lo tanto este pico no fue identificado.

✓ COMPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DEL TERCER PICO

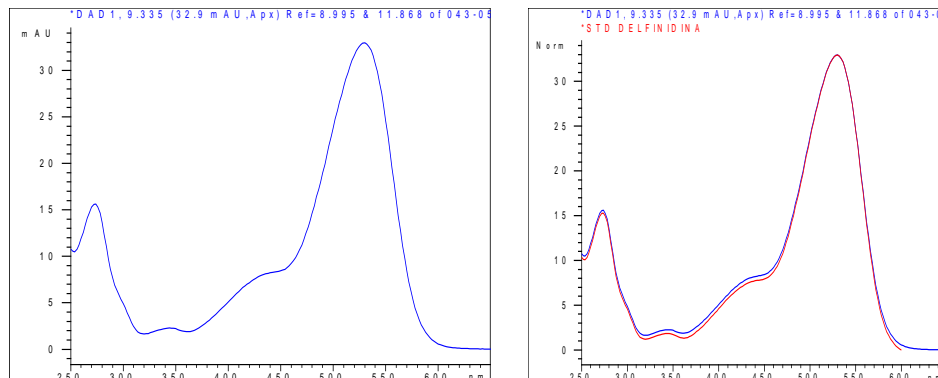
Figura 26: Tercer pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (peonidina).



Interpretación: El tercer pico fue retenido en el tiempo 8.566 minutos y se encuentra en un 7.1796 % del total de las antocianidinas presente en el fruto de *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche), este pico fue comparado con patrón antocianidina (peonidina) por que presentó mayor similitud en comparación con las otras antocianidinas, hecha la comparación con el patrón no coincide como se muestra en la **figura 26** el pico de la muestra es de color azul y la del patrón antocianidina (peonidina) es de color rojo, por lo tanto este pico no fue identificado.

✓ COMPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DEL CUARTO PICO

Figura 27: Cuarto pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (delfinidina).



Interpretación: El cuarto pico fue retenido en el tiempo 9.330 minutos y se encuentra en un 25.1358 % del total de las antocianidinas presente en el fruto de *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche), este pico fue comparado con patrón antocianidina (delfinidina) por que presentó mayor similitud en comparación con las otras antocianidinas, hecha la comparación con el patrón coincide como se muestra en la **figura 27** el pico de la muestra es de color azul y la del patrón antocianidina (delfinidina) es de color rojo, por lo tanto este pico fue identificado y se puede decir que en el fruto de *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) existe la antocianidina (delfinidina) en un porcentaje de 25.1358 % del total de las antocianidinas.

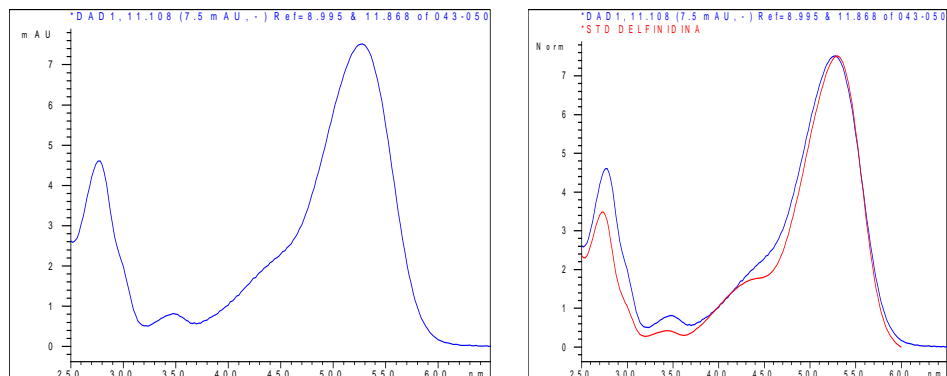
✓ COMPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DEL QUINTO PICO

Interpretación: El quinto pico fue retenido en el tiempo 9.974 minutos y se encuentra en un 1.0725 % del total de las antocianidinas presente en el fruto de *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche), este pico no fue comparado con

ningún patrón antocianidina por que no presentó ninguna similitud, por lo tanto este pico no fue identificado.

✓ COMPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DEL SEXTO PICO

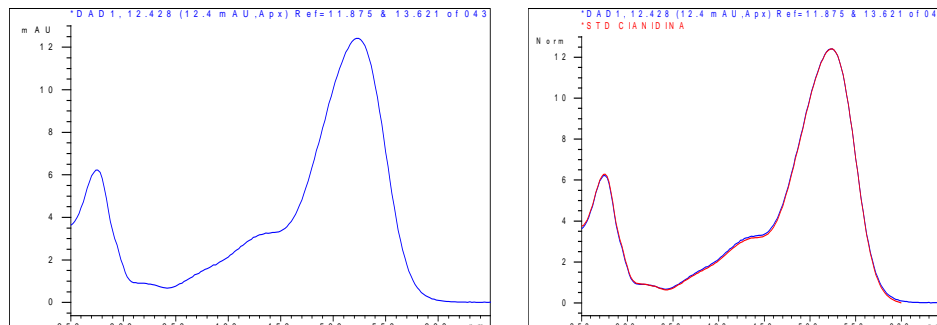
Figura 28: Sexto pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (delfinidina).



Interpretación: El sexto pico fue retenido en el tiempo 11.113 minutos y se encuentra en un 10.4263 % del total de las antocianidinas presente en el fruto de *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche), este pico fue comparado con patrón antocianidina (delfinidina) por que presentó mayor similitud en comparación con las otras antocianidinas, hecha la comparación con el patrón no coincide como se muestra en la **figura 28** el pico de la muestra es de color azul y la del patrón antocianidina (delfinidina) es de color rojo, por lo tanto este pico no fue identificado.

✓ COMPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DEL SÉPTIMO PICO

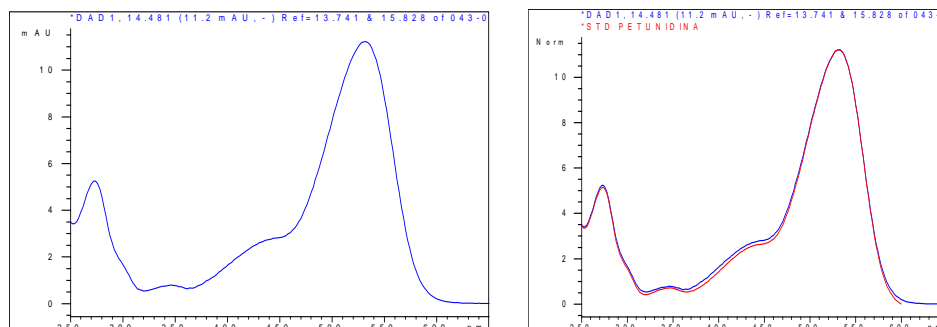
Figura 29: Séptimo pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (cianidina).



Interpretación: El séptimo pico fue retenido en el tiempo 12.428 minutos y se encuentra en un 14.5984 % del total de las antocianidinas presente en el fruto de *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche), este pico fue comparado con patrón antocianidina (cianidina) por que presentó mayor similitud en comparación con las otras antocianidinas, hecha la comparación con el patrón coincide como se muestra en la **figura 29** el pico de la muestra es de color azul y la del patrón antocianidina (cianidina) es de color rojo, por lo tanto este pico fue identificado y se puede decir que en el fruto de *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) existe la antocianidina (cianidina) en un porcentaje de 14.5984 % del total de las antocianidinas.

✓ COMPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DEL OCTAVO PICO

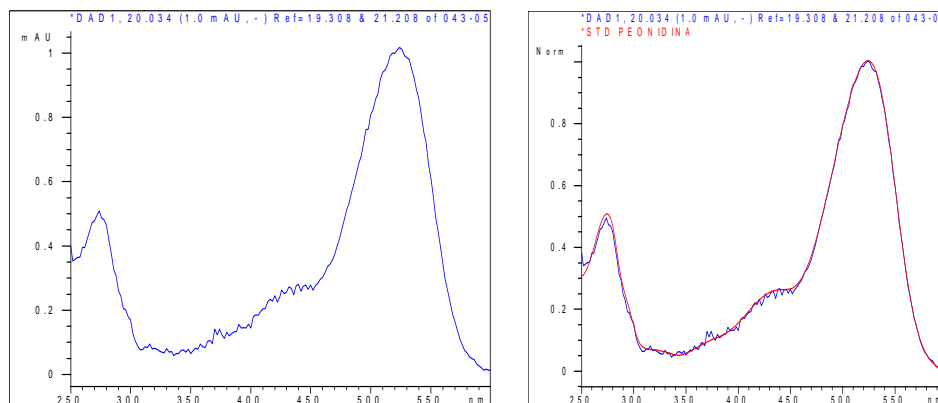
Figura 30: Octavo pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (petunidina).



Interpretación: El octavo pico fue retenido en el tiempo 14.482 minutos y se encuentra en un 14.6663 % del total de las antocianidinas presente en el fruto de *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche), este pico fue comparado con patrón antocianidina (petunidina) por que presentó mayor similitud en comparación con las otras antocianidinas, hecha la comparación con el patrón coincide como se muestra en la **figura 30** el pico de la muestra es de color azul y la del patrón antocianidina (petunidina) es de color rojo, por lo tanto este pico fue identificado y se puede decir que en el fruto de *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) existe la antocianidina (petunidina) en un porcentaje de 114.6663 % del total de las antocianidinas.

✓ COMPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DEL NOVENO PICO

Figura 31: Noveno pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (peonidina).

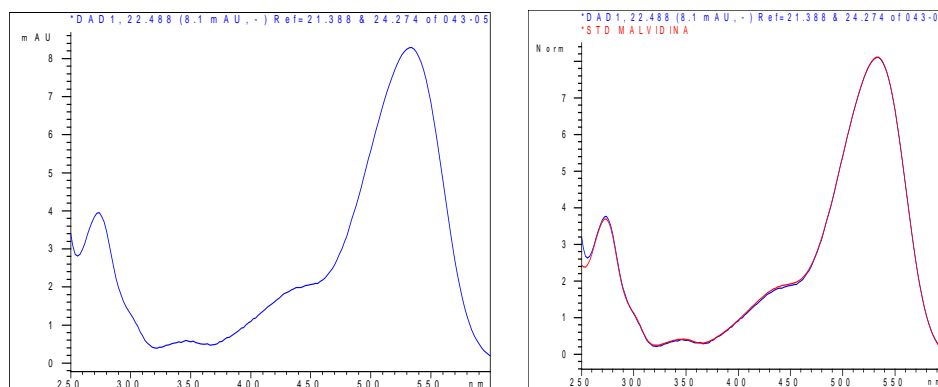


Interpretación: El noveno pico fue retenido en el tiempo 20.038 minutos y se encuentra en un 1.9088 % del total de las antocianidinas presente en el fruto de *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche), este pico fue comparado con patrón antocianidina (peonidina) por que presentó mayor similitud en comparación con las otras antocianidinas, hecha la comparación con el patrón

coincide como se muestra en la **figura 31** el pico de la muestra es de color azul y la del patrón antocianidina (petunidina) es de color rojo, por lo tanto este pico fue identificado y se puede decir que en el fruto de **Berberis humbertiana J.F. Macbr** (Cheqche) existe la antocianidina (peonidina) en un porcentaje de 1.9088 % del total de las antocianidinas.

✓ COMPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DEL DÉCIMO PICO

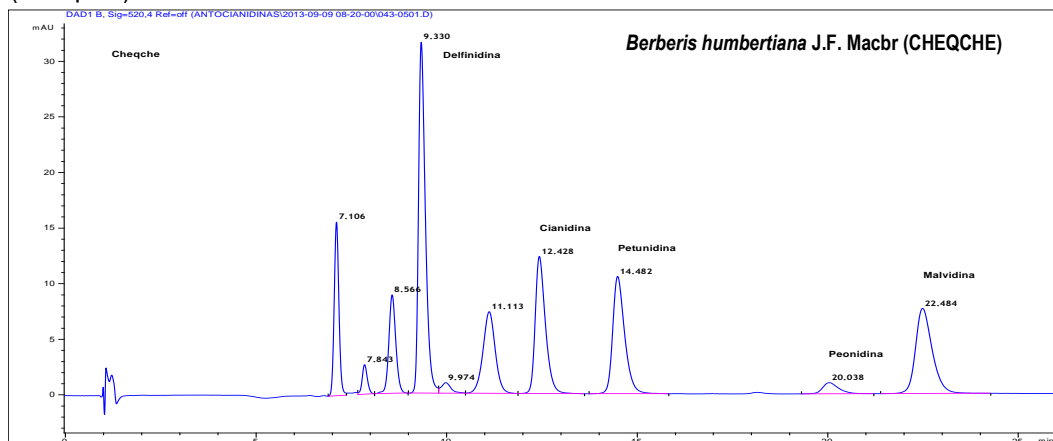
Figura 32: Décimo pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (malvidina).



Interpretación: El décimo pico fue retenido en el tiempo 22.484 minutos y se encuentra en un 14.8219 % del total de las antocianidinas presente en el fruto de **Berberis humbertiana J.F. Macbr** (Cheqche), este pico fue comparado con patrón antocianidina (malvidina) por que presentó mayor similitud en comparación con las otras antocianidinas, hecha la comparación con el patrón coincide como se muestra en la **figura 32** el pico de la muestra es de color azul y la del patrón antocianidina (malvidina) es de color rojo, por lo tanto este pico fue identificado y se puede decir que en el fruto de **Berberis humbertiana J.F. Macbr** (Cheqche) existe la antocianidina (malvidina) en un porcentaje de 14.8219 % del total de las antocianidinas.

B). CROMATOGRAMA CON PICOS IDENTIFICADOS DE *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (CHEQCHE)

Figura 33: Cromatograma con picos identificados de *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche).

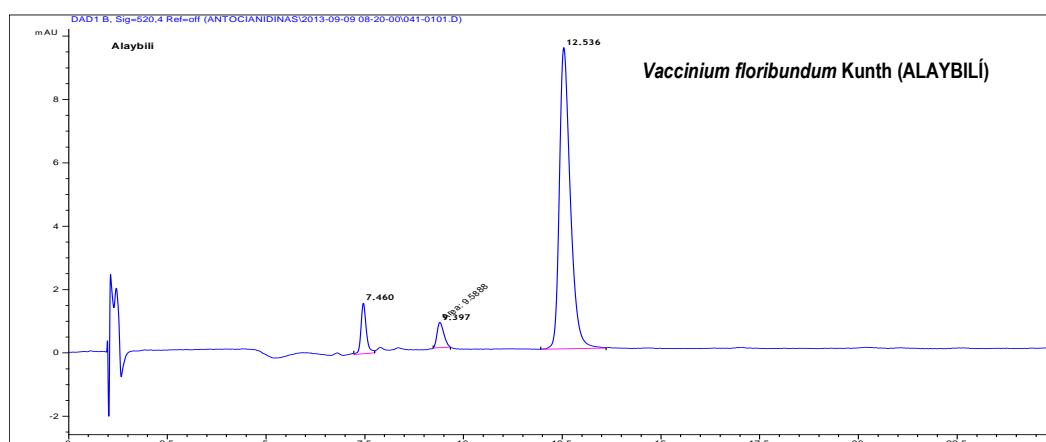


Interpretación: Después de haber realizado la comparación de todos los 10 picos presentes del cromatograma del *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) se identificaron 5 picos: **delfinidina** que fue retenida en un tiempo 9.330 minutos y se encuentra en 25.1358 %, **cianidina** que fue retenida en un tiempo 12.428 minutos y se encuentra en 14.5984 %, **petunidina** que fue retenida en un tiempo 14.482 minutos y se encuentra en 14.6663 %, **peonidina** que fue retenida en un tiempo 20.038 minutos y se encuentra en 1.9088 %, **malvidina** que fue retenida en un tiempo 22.484 minutos y se encuentra en 14.8219 %, de los otros 5 picos se desconoce su identidad por falta de patrones para realizar la comparación, los tiempos de retención y % de área de los picos del cromatograma de *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) se muestran en anexo 21.

3.1.4. RESULTADOS DE LA IDENTIFICACIÓN DE LAS ANTOCIANIDINAS DE *Vaccinium floribundum* Kunth (ALAYBILÍ) POR CROMATOGRAFÍA LIQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (HPLC).

En *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí) se encontró 3 picos como se muestra en cromatograma en la **figura 34**, por lo tanto esta planta en su fruto tiene 3 tipos de antocianidinas.

Figura 34: Cromatograma de *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí).



A). COMPARACIÓN DE LOS PICOS CON PATRONES PARA DETERMINAR LA IDENTIDAD

Para identificar las antocianidinas se realizó la comparación de los picos presentes en el cromatograma de la *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí) con los patrones obtenidos de las especies (uva, fresa) de la siguiente manera:

✓ COMPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DEL PRIMER PICO

Interpretación: El primer pico fue retenido en el tiempo 7.460 minutos y se encuentra en un 6.5804 % del total de las antocianidinas presente en el fruto de *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí), este pico no fue comparado con

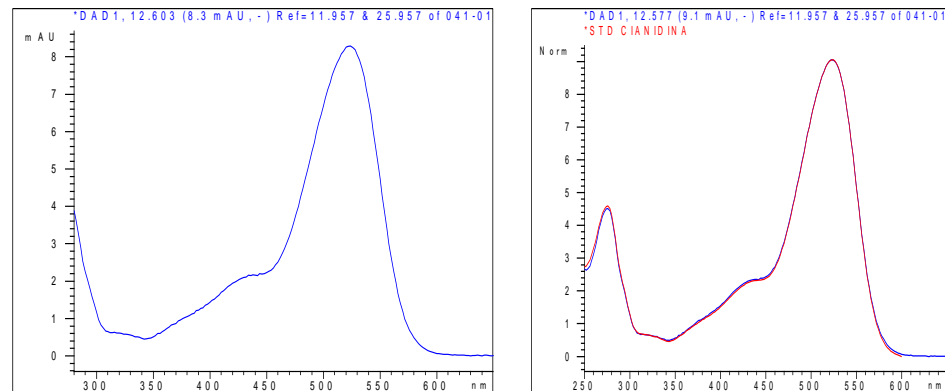
ningún patrón antocianidina por que no presentó ninguna similitud, por lo tanto este pico no fue identificado.

✓ **COMPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DEL SEGUNDO PICO**

Interpretación: El segundo pico fue retenido en el tiempo 9.396 minutos y se encuentra en un 5.5405 % del total de las antocianidinas presente en el fruto de *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí), este pico no fue comparado con ningún patrón antocianidina por que no presentó ninguna similitud, por lo tanto este pico no fue identificado.

✓ **COMPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DEL TERCER PICO**

Figura 35: Tercer pico del cromatograma y la comparación con el patrón antocianidina (cianidina).

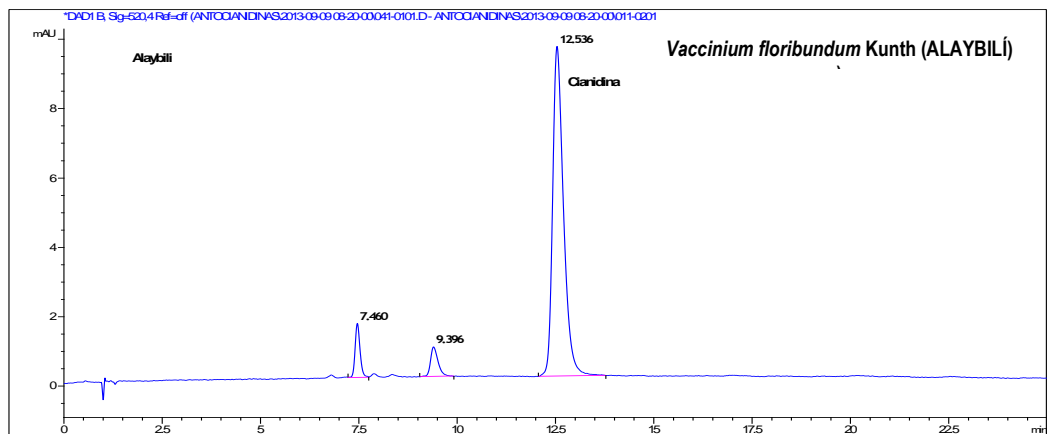


Interpretación: El tercer pico fue retenido en el tiempo 12.536 minutos y se encuentra en un 87.8791 % del total de las antocianidinas presente en el fruto de *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí), este pico fue comparado con patrón antocianidina (cianidina) por que presentó mayor similitud en comparación con las otras antocianidinas, hecha la comparación con el patrón coincide como se muestra en la **figura 35** el pico de la muestra es de color azul

y la del patrón antocianidina (cianidina) es de color rojo, por lo tanto este pico fue identificado y se puede decir que en el fruto de *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí) existe la antocianidina (cianidina) en un porcentaje de 87.8791 % del total de las antocianidinas.

B). CROMATOGRAMA CON PICOS IDENTIFICADOS DE *Vaccinium floribundum* Kunth (ALAYBILÍ)

Figura 36: Cromatograma con picos identificados de *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí).



Interpretación: Después de haber realizado la comparación de todos los 3 picos presentes del cromatograma del *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí) se identificó solo un pico: **cianidina** que fue retenida en un tiempo 12.536 minutos y se encuentra en 87.8791 %, de los otros 2 picos se desconoce su identidad por falta de patrones para realizar la comparación, los tiempos de retención y % de área de los picos del cromatograma de *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí) se muestran en anexo 22.

3.2. RESULTADOS DE LA CUANTIFICACIÓN DEL TOTAL DE ANTOCIANINAS MEDIANTE EL MÉTODO DEL pH DIFERENCIAL.

Se cuantificó el contenido total de antocianinas para cada uno de los frutos expresados en miligramos de antocianina en 100 gramos de fruto, para ello se utilizó las ecuaciones que se detallarán en la metodología.

3.2.1. RESULTADOS DE LA CUANTIFICACIÓN DEL TOTAL DE ANTOCIANINAS MEDIANTE EL MÉTODO DEL pH DIFERENCIAL DE *Hesperomeles escalloniifolia* Schltld (CAPACHU).

Cuadro 13: Resultados del cálculo de la absorbancia de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltld (Capachu).

MUESTRA	pH 1.0		pH 4.5		ABSORBANCIA DE LA MUESTRA (A)
	A(520 nm) X ± S	A(700 nm) X ± S	A(520 nm) X ± S	A(700 nm) X ± S	
<i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltld (CAPACHU)	0.538±0.04	0.001±0.00	0.051±0.00	0.004±0.00	0.489

X: Promedio de 3 repeticiones

S: Desviación estándar

Fuente: Elaboración propia

Cuadro 14: Resultados del cálculo del contenido de antocianinas de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltld (Capachu).

MUESTRA	DATOS	VALORES	CONTENIDO DE ANTOCIANINAS (p/p)
<i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltld (CAPACHU)	A	0.489	2026.201 mg/100 g
	MW (mg/mol)	449600	
	DF	12.5	
	E (L/cm*mol)	26900	
	L (cm)	1	
	V (L)	0.05	
	Wt (g)	0.5021	

Fuente: Elaboración propia

Interpretación: En cuadro 13 se muestra los valores de absorbancia de los extracto antocianico de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltld (Capachu) leídas a longitudes de

onda a 520 nm y 700 nm a diferente pH (1.0 y 4.5), estos datos se utilizaron para calcular la absorbancia de la muestra $A = 0.489$, en el cuadro 14 se muestra el resultado del cálculo del contenido total de antocianinas de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltld (Capachu) que es de **2026.201 mg/100 g**, quiere decir que en 100 gramos de fruto sin semillas deshidratado de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltld (Capachu) podemos encontrar **2026.201** miligramos de antocianina.

3.2.2. RESULTADOS DE LA CUANTIFICACIÓN DEL TOTAL DE ANTOCIANINAS MEDIANTE EL MÉTODO DEL pH DIFERENCIAL DE *Berberis cummutata* Eichler (HUANCACHU).

Cuadro 15: Resultados del cálculo de la absorbancia de *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu).

MUESTRA	pH 1.0		pH 4.5		ABSORBANCIA DE LA MUESTRA (A)
	A(520 nm) X ± S	A(700 nm) X ± S	A(520 nm) X ± S	A(700 nm) X ± S	
<i>Berberis cummutata</i> Eichler (Huancachu).	0.320±0.02	0.002±0.00	0.039±0.00	0.004±0.00	0.284

X: Promedio de 3 repeticiones

S: Desviación estándar

Fuente: Elaboración propia

Cuadro 16: Resultados del cálculo del contenido de antocianinas de *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu).

MUESTRA	DATOS	VALORES	CONTENIDO DE ANTOCIANINAS (p/p)
<i>Berberis cummutata</i> Eichler (Huancachu).	A	0.284	1271.809 mg/100 g
	MW (mg/mol)	449600	
	DF	14	
	E (L/cm*mol)	26900	
	L (cm)	1	
	V (L)	0.05	
	Wt (g)	0.5111	

Fuente: Elaboración propia

Interpretación: En cuadro 15 se muestra los valores de absorbancia de los extracto antocianico de *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu) leídas a longitudes de onda a

520 nm y 700 nm a diferente pH (1.0 y 4.5), estos datos se utilizaron para calcular la absorbancia de la muestra $A = 0.284$, en el cuadro 16 se muestra el resultado del cálculo del contenido total de antocianinas de *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu) que es de **1271.809 mg/100 g**, quiere decir que en 100 gramos de fruto sin semillas deshidratado de *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu) podemos encontrar **1271.809** miligramos de antocianina.

3.2.3. RESULTADOS DE LA CUANTIFICACIÓN DEL TOTAL DE ANTOCIANINAS MEDIANTE EL MÉTODO DEL pH DIFERENCIAL DE *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (CHEQCHE).

Cuadro 17: Resultados del cálculo de la absorbancia de *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche).

MUESTRA	pH 1.0		pH 4.5		ABSORBANCIA DE LA MUESTRA (A)
	A(520 nm) X ± S	A(700 nm) X ± S	A(520 nm) X ± S	A(700 nm) X ± S	
<i>Berberis humbertiana</i> J.F. Macbr (Cheqche).	0.633±0.00	0.002±0.00	0.083±0.00	0.002±0.00	0.549

X: Promedio de 3 repeticiones

S: Desviación estándar

Fuente: Elaboración propia

Cuadro 18: Resultados del cálculo del contenido de antocianinas de *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche).

MUESTRA	DATOS	VALORES	CONTENIDO DE ANTOCIANINAS (p/p)
<i>Berberis humbertiana</i> J.F. Macbr (Cheqche).	A	0.549	2306.297 mg/100 g
	MW (mg/mol)	449600	
	DF	14	
	E (L/cm ² *mol)	26900	
	L (cm)	1	
	V (L)	0.05	
	Wt (g)	0.5277	

Fuente: Elaboración propia

Interpretación: En cuadro 17 se muestra los valores de absorbancia de los extracto antocianico de *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) leídas a longitudes de onda a 520 nm y 700 nm a diferente pH (1.0 y 4.5), estos datos se utilizaron para calcular la absorbancia de la muestra $A = 0.549$, en el cuadro 18 se muestra el resultado del cálculo del contenido total de antocianinas de *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) que es de **2306.297 mg/100 g**, quiere decir que en 100 gramos de fruto con semillas deshidratado de *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) podemos encontrar **2306.297** miligramos de antocianina.

3.2.4. RESULTADOS DE LA CUANTIFICACIÓN DEL TOTAL DE ANTOCIANINAS MEDIANTE EL MÉTODO DEL pH DIFERENCIAL DE *Vaccinium floribundum* Kunth (ALAYBILÍ).

Cuadro 19 Resultados del cálculo de la absorbancia de *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybili).

MUESTRA	pH 1.0		pH 4.5		ABSORBANCIA DE LA MUESTRA (A)
	A(520 nm) X ± S	A(700 nm) X ± S	A(520 nm) X ± S	A(700 nm) X ± S	
<i>Vaccinium floribundum</i> Kunth (Alaybili).	0.111±0.00	0.001±0.00	0.016±0.00	0.003±0.00	0.096

X: Promedio de 3 repeticiones

S: Desviación estándar

Fuente: Elaboración propia

Cuadro 20: Resultados del cálculo del contenido de antocianinas de *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybili).

MUESTRA	DATOS	VALORES	CONTENIDO DE ANTOCIANINAS (p/p)
<i>Vaccinium floribundum</i> Kunth (Alaybili).	A	0.096	319.170 mg/100 g
	MW (mg/mol)	449600	
	DF	12.5	
	E (L/cm*mol)	26900	
	L (cm)	1	
	V (L)	0.05	
	Wt (g)	0.5605	

Fuente: Elaboración propia

Interpretación: En cuadro 19 se muestra los valores de absorbancia de los extracto antocianico de *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí) leídas a longitudes de onda a 520 nm y 700 nm a diferente pH (1.0 y 4.5), estos datos se utilizaron para calcular la absorbancia de la muestra $A= 0.096$, en el cuadro 20 se muestra el resultado del cálculo del contenido total de antocianinas de *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí) que es de **319.170 mg/100 g**, quiere decir que en 100 gramos de fruto con semillas deshidratado de *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí) podemos encontrar **319.170** miligramos de antocianina.

3.3. RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DE ANTOCIANINAS PRESENTES EN LOS FRUTOS *Hesperomeles escalloniifolia* Schltdl (CAPACHU), *Berberis cummutata* Eichler (HUANCACHU), *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (CHEQCHE) Y *Vaccinium floribundum* Kunth (ALAYBILÍ).

Para evaluar la estabilidad de las antocianinas presentes en los frutos se realizó lecturas de absorbancias (nm) utilizando espectrofotómetro UV-Visible cada 2 días durante 30 días a continuación se muestran los resultados de la evaluación de la estabilidad de las antocianinas de los 4 frutos en estudio.

3.3.1. RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DE ANTOCIANINA PRESENTE EN EL *Hesperomeles escalloniifolia* Schldl (CAPACHU).

Cuadro 21: Resultados de la lectura de las absorbancia de *Hesperomeles escalloniifolia* Schldl (Capachu).

TRATAMIENTOS PARA <i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schldl (CAPACHU)									
DIAS	T1 (20°C,3pH)	T2 (20°C,4pH)	T3 (20°C,5pH)	T4 (30°C,3pH)	T5 (30°C,4pH)	T6 (30°C,5pH)	T7 (40°C,3pH)	T8 (40°C,4pH)	T9 (40°C,5pH)
	Abs-(PROM) X ± S	Abs-(PROM) X ± S	Abs-(PROM) X ± S	Abs-(PROM) X ± S	Abs-(PROM) X ± S	Abs-(PROM) X ± S	Abs-(PROM) X ± S	Abs-(PROM) X ± S	Abs-(PROM) X ± S
1	0.729 ± 0.012	0.731 ± 0.001	0.707 ± 0.002	0.722 ± 0.001	0.665 ± 0.002	0.677 ± 0.002	0.723 ± 0.002	0.625 ± 0.002	0.653 ± 0.002
3	0.717 ± 0.001	0.725 ± 0.002	0.682 ± 0.001	0.707 ± 0.002	0.645 ± 0.002	0.643 ± 0.002	0.718 ± 0.002	0.585 ± 0.001	0.626 ± 0.001
5	0.714 ± 0.001	0.713 ± 0.002	0.665 ± 0.001	0.683 ± 0.001	0.633 ± 0.002	0.615 ± 0.002	0.713 ± 0.002	0.534 ± 0.001	0.605 ± 0.002
7	0.716 ± 0.005	0.695 ± 0.003	0.653 ± 0.002	0.666 ± 0.002	0.584 ± 0.002	0.604 ± 0.001	0.703 ± 0.002	0.454 ± 0.003	0.597 ± 0.002
9	0.712 ± 0.001	0.683 ± 0.002	0.637 ± 0.001	0.653 ± 0.001	0.562 ± 0.002	0.588 ± 0.002	0.704 ± 0.001	0.406 ± 0.002	0.582 ± 0.002
11	0.708 ± 0.001	0.674 ± 0.001	0.625 ± 0.001	0.646 ± 0.001	0.494 ± 0.002	0.576 ± 0.002	0.702 ± 0.001	0.365 ± 0.002	0.573 ± 0.002
13	0.705 ± 0.001	0.664 ± 0.001	0.613 ± 0.002	0.641 ± 0.002	0.426 ± 0.001	0.563 ± 0.002	0.698 ± 0.001	0.325 ± 0.003	0.564 ± 0.001
15	0.703 ± 0.001	0.652 ± 0.001	0.591 ± 0.002	0.636 ± 0.002	0.395 ± 0.002	0.557 ± 0.001	0.695 ± 0.002	0.305 ± 0.002	0.556 ± 0.001
17	0.702 ± 0.001	0.644 ± 0.002	0.586 ± 0.002	0.636 ± 0.002	0.381 ± 0.002	0.546 ± 0.002	0.686 ± 0.001	0.283 ± 0.002	0.547 ± 0.001
19	0.702 ± 0.001	0.635 ± 0.002	0.575 ± 0.002	0.636 ± 0.002	0.373 ± 0.001	0.542 ± 0.002	0.674 ± 0.002	0.277 ± 0.002	0.543 ± 0.002
21	0.701 ± 0.001	0.629 ± 0.002	0.568 ± 0.001	0.633 ± 0.002	0.357 ± 0.002	0.536 ± 0.003	0.663 ± 0.002	0.253 ± 0.003	0.537 ± 0.001
23	0.700 ± 0.001	0.623 ± 0.002	0.565 ± 0.002	0.633 ± 0.002	0.342 ± 0.002	0.534 ± 0.002	0.657 ± 0.002	0.246 ± 0.001	0.534 ± 0.002
25	0.700 ± 0.001	0.618 ± 0.001	0.544 ± 0.001	0.629 ± 0.002	0.335 ± 0.001	0.527 ± 0.001	0.652 ± 0.002	0.229 ± 0.002	0.533 ± 0.002
27	0.698 ± 0.001	0.615 ± 0.002	0.537 ± 0.002	0.627 ± 0.002	0.327 ± 0.001	0.527 ± 0.002	0.645 ± 0.002	0.213 ± 0.002	0.529 ± 0.004
29	0.697 ± 0.001	0.605 ± 0.002	0.527 ± 0.002	0.624 ± 0.002	0.318 ± 0.001	0.523 ± 0.002	0.645 ± 0.001	0.195 ± 0.002	0.527 ± 0.002
30	0.696 ± 0.001	0.598 ± 0.001	0.525 ± 0.001	0.624 ± 0.002	0.316 ± 0.002	0.524 ± 0.002	0.643 ± 0.002	0.172 ± 0.001	0.526 ± 0.002

X: Promedio de 3 repeticiones

S: Desviación estándar

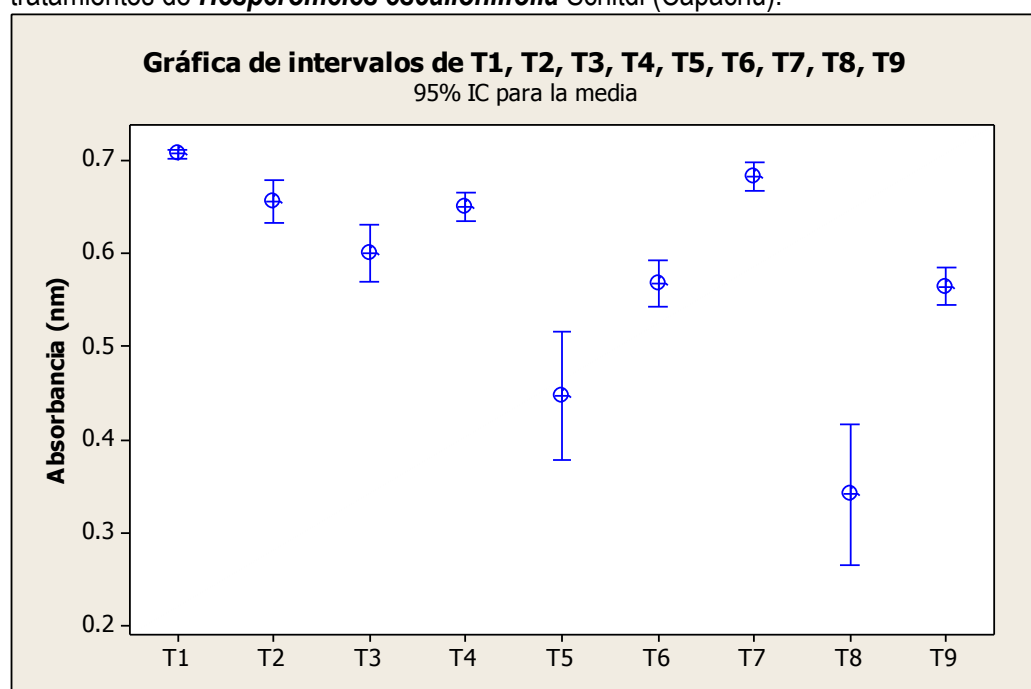
Fuente: Elaboración propia

Cuadro 22: Resultados del cálculo de la variación de absorbancia (Δ Abs) y el porcentaje de la variación de la absorbancia en 30 días de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltdl (Capachu).

TRATAMIENTOS	T (°C)	pH	Δ Abs	%(Δ Abs) en 30 días
T1	20	3	0.0330	4.53
T2	20	4	0.1327	18.15
T3	20	5	0.1823	25.79
T4	30	3	0.0977	13.53
T5	30	4	0.3497	52.56
T6	30	5	0.1527	22.55
T7	40	3	0.0793	10.98
T8	40	4	0.4533	72.49
T9	40	5	0.1267	19.41

Fuente: Elaboración propia

Figura 37: Comparación de la media de las absorbancias (nm) de los 30 días de tratamientos de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltdl (Capachu).



Fuente: Elaboración propia

Interpretación: En el cuadro 21 se muestran las absorbancias obtenidas desde el día 1 hasta el día 30 para cada tratamiento, en el cuadro 22 se muestran el cálculo de la variación de absorbancias (Δ Abs) del día 1 al día 30, para calcular se utilizó la siguiente

ecuación: $\Delta \text{Abs} = \text{Abs}_{\text{día 1}} - \text{Abs}_{\text{día 30}}$, también se calculó el porcentaje de la variación de la absorbancia en 30 días ($\%(\Delta \text{Abs})$ en 30 días), de los resultados obtenidos se puede apreciar que los tratamientos T1, T4 y T7 presentan valores de variación de absorbancias menores en comparación a los demás tratamientos como se puede ver en la figura 37 y el porcentaje de variación de absorbancia de estos tratamientos es 4.53%, 13.53% y 10.98% respectivamente; por ello podemos mencionar que el tratamiento que presentó menor variación es el T1 a una temperatura de 20 °C a pH de 3, en 30 días varió en 4.53%.

**ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DE LA VARIACIÓN DE ABSORBANCIA (ΔAbs)
CON NIVEL DE SIGNIFICANCIA $\alpha = 0.05$**

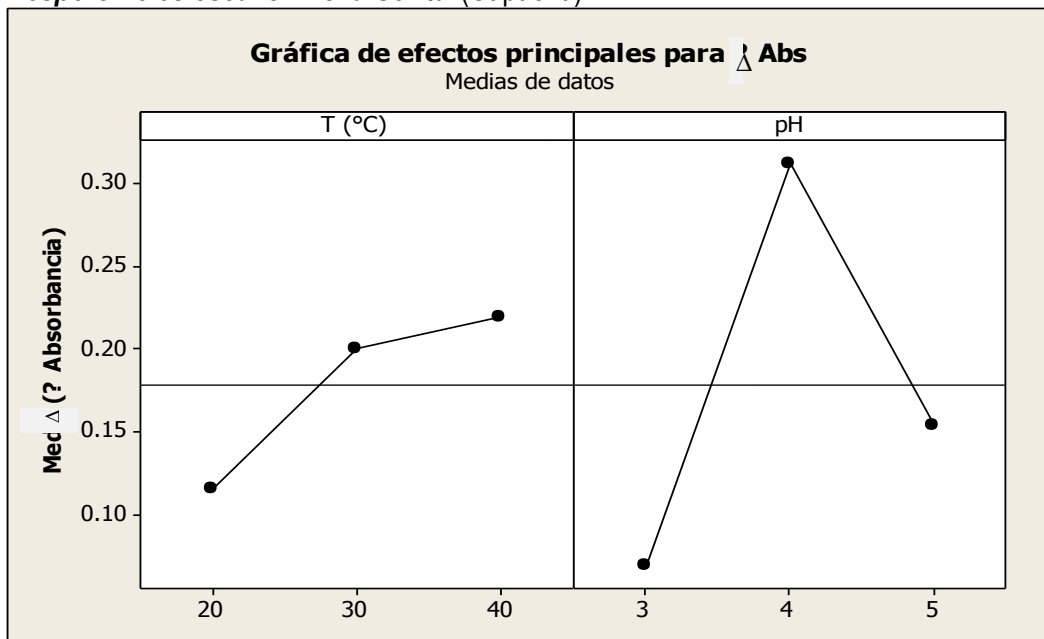
Cuadro 23: Análisis de varianza (ANOVA) de la variación de absorbancia (ΔAbs) de cada factor temperatura (T °C) y pH, para *Hesperomeles escalloniifolia* Schltdl (Capachu).

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Efectos Principales					
A: T (°C)	0.018217	2	0.009108	0.93	0.465
B: pH	0.090512	2	0.045256	4.63	0.091
Residuos	0.03911	4	0.009778		
Total (Corregido)	0.147839	8			

Fuente: Elaboración propia

Interpretación: El P-valor para temperatura (T °C) es mayor a 0.05 y el P-valor para pH es mayor a 0.05, entonces no existe una diferencia estadísticamente significativo, por lo tanto podemos decir que no influyen en la estabilidad de las antocianinas presentes en el fruto *Hesperomeles escalloniifolia* Schltdl (Capachu), con un nivel del 95.0 % de confiabilidad.

Figura 38: Efectos principales para la variación de absorbancia (Δ Abs) de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltld (Capachu).



Fuente: Elaboración propia

Interpretación: A temperaturas mayores y pH mayor, la variación de la absorbancia (Δ Abs) de las antocianinas de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltld (Capachu) es mayor, por lo tanto podemos decir que a esas condiciones es inestable la antocianina presente en dicho fruto, por la variación que presenta.

ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DE LA INTERACCIÓN DE FACTORES CON NIVEL DE SIGNIFICANCIA $\alpha = 0.05$

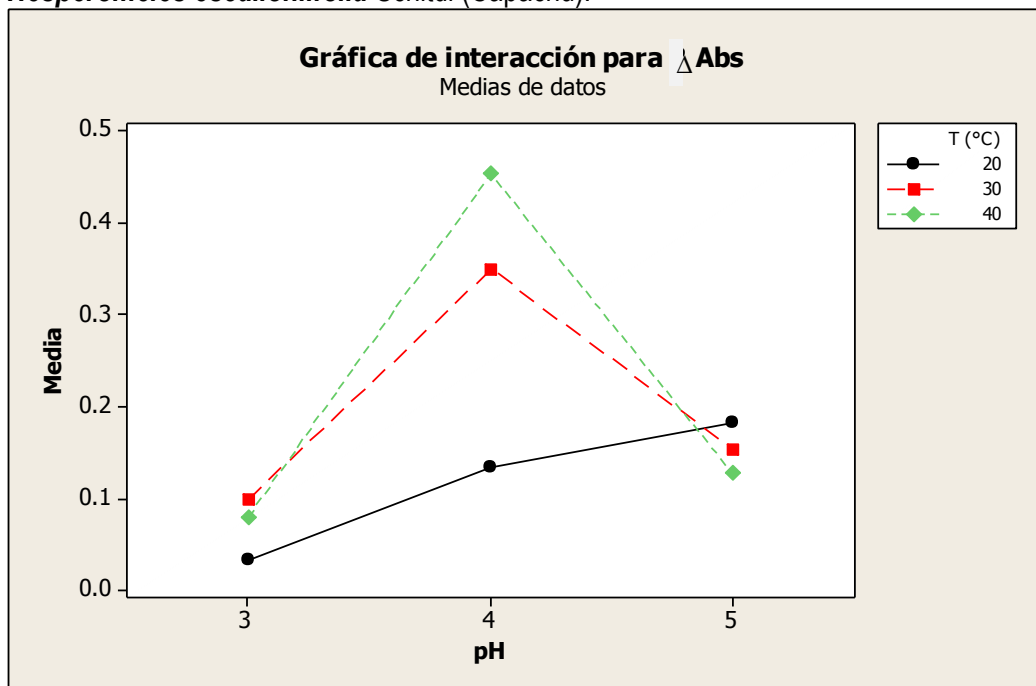
Cuadro 24: Análisis de varianza (ANOVA) de la variación de absorbancia (Δ Abs) de la interacción de los factores temperatura (T °C) y pH, para *Hesperomeles escalloniifolia* Schltld (Capachu).

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	4739.758	2	2369.879	93.834	0.000	3.403
Dentro de los grupos	606.148	24	25.256			
Total	5345.906	26				

Fuente: Elaboración propia

Interpretación: El P-valor de la interacción de la temperatura (T °C) y pH es menor a 0.05, entonces existe una diferencia estadísticamente significativo, por lo tanto podemos decir que la interacción de los dos factores si influyen en la estabilidad de las antocianinas presentes en el fruto *Hesperomeles escalloniifolia* Schltdl (Capachu), con un nivel del 95.0 % de confiabilidad.

Figura 39: Interacción de los factores en la variación de absorbancia (Δ Abs) de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltdl (Capachu).



Fuente: Elaboración propia

Interpretación: La menor variación de la absorbancia (Δ Abs) que presenta las antocianinas de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltdl (Capachu) es a temperatura de 20 °C y un pH de 3, por lo tanto podemos decir que a medida que la temperatura y el pH baja, variación será mínimo.

3.3.2. RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DE ANTOCIANINA PRESENTE EN EL *Berberis cummutata* Eichler (HUANCACHU).

Cuadro 25: Resultados de la lectura de las absorbancia de *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu).

TRATAMIENTOS PARA <i>Berberis cummutata</i> Eichler (HUANCACHU)									
DIAS	T1 (20°C,3pH)	T2 (20°C,4pH)	T3 (20°C,5pH)	T4 (30°C,3pH)	T5 (30°C,4pH)	T6 (30°C,5pH)	T7 (40°C,3pH)	T8 (40°C,4pH)	T9 (40°C,5pH)
	Abs-(PROM) X ± S	Abs-(PROM) X ± S	Abs-(PROM) X ± S	Abs-(PROM) X ± S	Abs-(PROM) X ± S	Abs-(PROM) X ± S	Abs-(PROM) X ± S	Abs-(PROM) X ± S	Abs-(PROM) X ± S
1	0.335 ± 0.002	0.485 ± 0.001	0.886 ± 0.001	1.277 ± 0.001	0.454 ± 0.001	0.868 ± 0.001	1.222 ± 0.002	0.419 ± 0.002	0.854 ± 0.002
3	0.316 ± 0.002	0.463 ± 0.002	0.876 ± 0.002	1.227 ± 0.002	0.387 ± 0.002	0.856 ± 0.001	1.103 ± 0.002	0.396 ± 0.002	0.843 ± 0.002
5	0.282 ± 0.002	0.457 ± 0.001	0.867 ± 0.002	1.157 ± 0.002	0.354 ± 0.002	0.835 ± 0.002	0.956 ± 0.001	0.377 ± 0.002	0.823 ± 0.002
7	0.255 ± 0.002	0.454 ± 0.002	0.862 ± 0.002	1.107 ± 0.002	0.327 ± 0.002	0.823 ± 0.002	0.835 ± 0.001	0.326 ± 0.003	0.797 ± 0.002
9	0.213 ± 0.002	0.414 ± 0.002	0.858 ± 0.001	0.995 ± 0.002	0.313 ± 0.001	0.814 ± 0.003	0.746 ± 0.003	0.253 ± 0.002	0.773 ± 0.001
11	0.192 ± 0.000	0.386 ± 0.001	0.853 ± 0.002	0.983 ± 0.001	0.294 ± 0.001	0.798 ± 0.002	0.645 ± 0.002	0.235 ± 0.002	0.765 ± 0.002
13	0.173 ± 0.002	0.344 ± 0.002	0.848 ± 0.001	0.952 ± 0.001	0.278 ± 0.002	0.793 ± 0.002	0.582 ± 0.002	0.212 ± 0.002	0.758 ± 0.001
15	0.153 ± 0.001	0.334 ± 0.003	0.845 ± 0.001	0.934 ± 0.001	0.242 ± 0.002	0.785 ± 0.002	0.554 ± 0.001	0.157 ± 0.002	0.757 ± 0.001
17	0.146 ± 0.002	0.332 ± 0.002	0.842 ± 0.001	0.883 ± 0.001	0.235 ± 0.001	0.774 ± 0.002	0.505 ± 0.001	0.127 ± 0.002	0.745 ± 0.001
19	0.144 ± 0.001	0.331 ± 0.001	0.838 ± 0.001	0.842 ± 0.001	0.222 ± 0.001	0.764 ± 0.001	0.447 ± 0.002	0.113 ± 0.001	0.738 ± 0.001
21	0.137 ± 0.002	0.327 ± 0.002	0.834 ± 0.002	0.818 ± 0.002	0.206 ± 0.003	0.752 ± 0.001	0.397 ± 0.001	0.095 ± 0.002	0.733 ± 0.002
23	0.136 ± 0.002	0.327 ± 0.001	0.833 ± 0.002	0.752 ± 0.001	0.196 ± 0.003	0.746 ± 0.001	0.345 ± 0.002	0.075 ± 0.002	0.726 ± 0.002
25	0.125 ± 0.002	0.327 ± 0.001	0.831 ± 0.001	0.708 ± 0.003	0.168 ± 0.001	0.737 ± 0.002	0.258 ± 0.001	0.056 ± 0.002	0.722 ± 0.001
27	0.123 ± 0.002	0.327 ± 0.001	0.829 ± 0.001	0.658 ± 0.002	0.162 ± 0.002	0.723 ± 0.002	0.104 ± 0.002	0.046 ± 0.002	0.719 ± 0.002
29	0.117 ± 0.001	0.326 ± 0.002	0.825 ± 0.001	0.627 ± 0.002	0.157 ± 0.001	0.697 ± 0.003	0.017 ± 0.002	0.038 ± 0.002	0.711 ± 0.002
30	0.114 ± 0.001	0.326 ± 0.003	0.822 ± 0.001	0.615 ± 0.002	0.152 ± 0.002	0.663 ± 0.002	0.008 ± 0.002	0.027 ± 0.002	0.703 ± 0.002

X: Promedio de 3 repeticiones

S: Desviación estándar

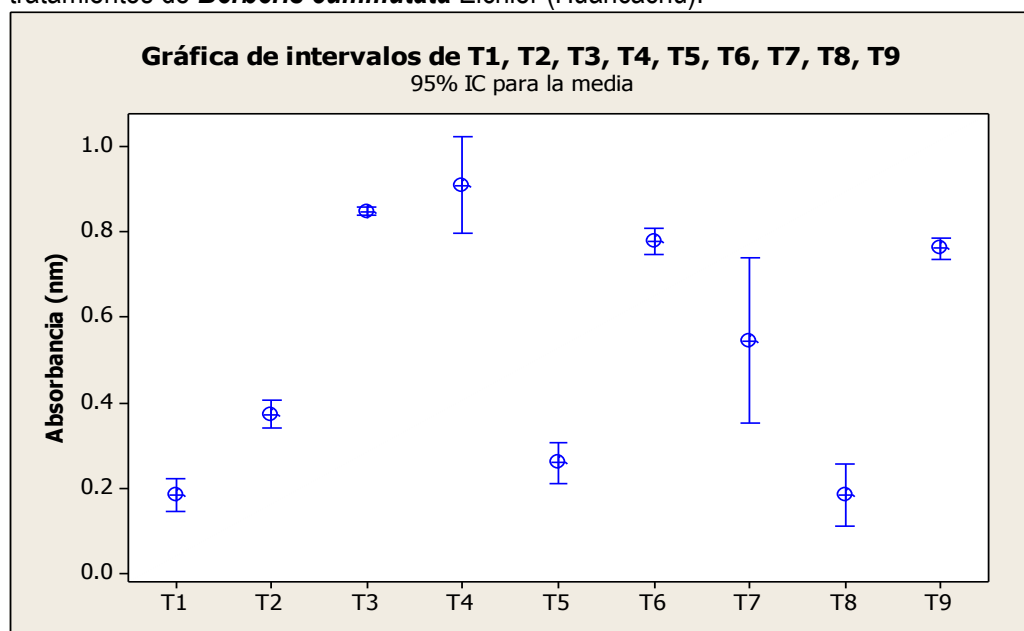
Fuente: Elaboración propia

Cuadro 26: Resultados del cálculo de la variación de absorbancia (Δ Abs) y el porcentaje de la variación de la absorbancia en 30 días de *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu).

TRATAMIENTOS	T (°C)	pH	Δ Abs	%(Δ Abs) en 30 días
T1	20	3	0.221	66.00
T2	20	4	0.159	32.85
T3	20	5	0.064	7.22
T4	30	3	0.662	51.81
T5	30	4	0.302	66.45
T6	30	5	0.205	23.58
T7	40	3	1.215	99.37
T8	40	4	0.392	93.56
T9	40	5	0.152	17.75

Fuente: Elaboración propia

Figura 40: Comparación de la media de las absorbancias (nm) de los 30 días de tratamientos de *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu).



Fuente: Elaboración propia

Interpretación: En el cuadro 25 se muestran las absorbancias obtenidas desde el día 1 hasta el día 30 para cada tratamiento, en el cuadro 26 se muestran el cálculo de la variación de absorbancias (Δ Abs) del día 1 al día 30, para calcular se utilizó la siguiente ecuación: Δ Abs = Abs_{día 1} - Abs_{día 30}, también se calculó el porcentaje de la variación de

la absorbancia en 30 días ($\%(\Delta \text{ Abs})$ en 30 días)), de los resultados obtenidos se puede apreciar que los tratamientos T3, T6 y T9 presentan valores de variación de absorbancias menores en comparación a los demás tratamientos como se puede ver en la figura 40 y el porcentaje de variación de absorbancia de estos tratamientos es 7.22%, 23.58% y 17.75% respectivamente; por ello podemos mencionar que el tratamiento que presento menor variación es el T3 a una temperatura de 20 °C a pH de 5, en 30 días varió en 7.22%.

**ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DE LA VARIACIÓN DE ABSORBANCIA ($\Delta \text{ Abs}$)
CON NIVEL DE SIGNIFICANCIA $\alpha = 0.05$**

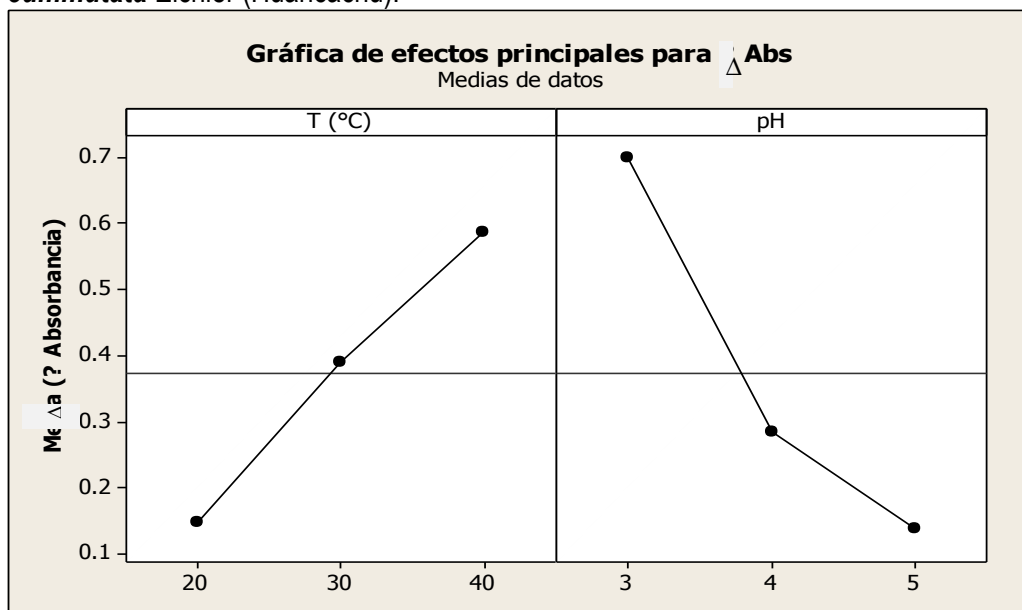
Cuadro 27: Análisis de varianza (ANOVA) de la variación de absorbancia ($\Delta \text{ Abs}$) de cada factor temperatura (T °C) y pH, para *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu).

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Efectos Principales					
A: T (°C)	0.28874	2	0.14437	2.36	0.21
B: pH	0.50548	2	0.25274	4.14	0.106
Residuos	0.24441	4	0.0611		
Total (Corregido)	1.03863	8			

Fuente: Elaboración propia

Interpretación: El P-valor para temperatura (T °C) es mayor a 0.05 y el P-valor para pH es mayor a 0.05, entonces no existe una diferencia estadísticamente significativo, por lo tanto podemos decir que no influyen en la estabilidad de las antocianinas presentes en el fruto *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu), con un nivel del 95.0 % de confiabilidad.

Figura 41: Efectos principales para la variación de absorbancia (Δ Abs) de *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu).



Fuente: Elaboración propia

Interpretación: A temperaturas mayores y pH menor, la variación de la absorbancia (Δ Abs) de las antocianinas de *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu) es mayor, por lo tanto podemos decir que a esas condiciones es inestable la antocianina presente en dicho fruto, por la variación que presenta.

ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DE LA INTERACCIÓN DE FACTORES CON NIVEL DE SIGNIFICANCIA $\alpha = 0.05$

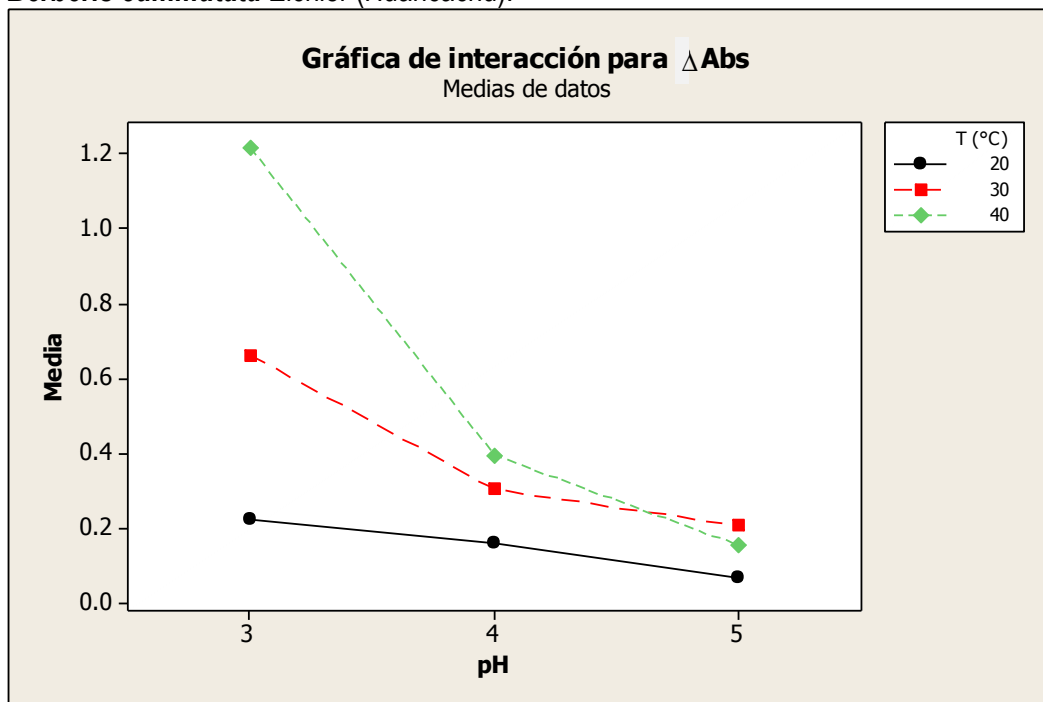
Cuadro 28: Análisis de varianza (ANOVA) de la variación de absorbancia (Δ Abs) de la interacción de los factores temperatura (T °C) y pH, para *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu).

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	4700.425	2	2350.213	92.918	5.01E-12	3.403
Dentro de los grupos	607.039	24	25.293			
Total	5307.464	26				

Fuente: Elaboración propia

Interpretación: El P-valor de la interacción de la temperatura (T °C) y pH es menor a 0.05, entonces existe una diferencia estadísticamente significativo, por lo tanto podemos decir que la interacción de los dos factores si influyen en la estabilidad de las antocianinas presentes en el fruto *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu), con un nivel del 95.0 % de confiabilidad.

Figura 42: Interacción de los factores en la variación de absorbancia (Δ Abs) de *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu).



Fuente: Elaboración propia

Interpretación: La menor variación de la absorbancia (Δ Abs) que presenta las antocianinas de *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu) es a temperatura de 20 °C y un pH de 5, por lo tanto podemos decir que a medida que la temperatura baja y el pH sube, variación será mínimo.

3.3.3. RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DE ANTOCIANINA PRESENTE EN EL *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (CHEQCHE).

Cuadro 29: Resultados de la lectura de las absorbancia de *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche).

TRATAMIENTOS PARA <i>Berberis humbertiana</i> J.F. Macbr (CHEQCHE)									
DIAS	T1 (20°C,3pH)	T2 (20°C,4pH)	T3 (20°C,5pH)	T4 (30°C,3pH)	T5 (30°C,4pH)	T6 (30°C,5pH)	T7 (40°C,3pH)	T8 (40°C,4pH)	T9 (40°C,5pH)
	Abs-(PROM) X ± S	Abs-(PROM) X ± S	Abs-(PROM) X ± S	Abs-(PROM) X ± S	Abs-(PROM) X ± S	Abs-(PROM) X ± S	Abs-(PROM) X ± S	Abs-(PROM) X ± S	Abs-(PROM) X ± S
1	0.774 ± 0.001	0.764 ± 0.001	0.667 ± 0.003	0.774 ± 0.001	0.704 ± 0.001	0.636 ± 0.002	0.777 ± 0.002	0.693 ± 0.002	0.635 ± 0.002
3	0.773 ± 0.002	0.724 ± 0.002	0.637 ± 0.001	0.762 ± 0.002	0.662 ± 0.002	0.612 ± 0.002	0.774 ± 0.002	0.613 ± 0.002	0.614 ± 0.002
5	0.771 ± 0.001	0.657 ± 0.002	0.626 ± 0.002	0.754 ± 0.001	0.598 ± 0.001	0.587 ± 0.002	0.767 ± 0.002	0.554 ± 0.002	0.597 ± 0.002
7	0.770 ± 0.001	0.562 ± 0.002	0.623 ± 0.002	0.742 ± 0.001	0.544 ± 0.001	0.564 ± 0.001	0.766 ± 0.002	0.466 ± 0.002	0.555 ± 0.001
9	0.768 ± 0.001	0.524 ± 0.002	0.597 ± 0.002	0.744 ± 0.001	0.487 ± 0.002	0.514 ± 0.002	0.764 ± 0.002	0.387 ± 0.002	0.514 ± 0.002
11	0.767 ± 0.001	0.514 ± 0.002	0.563 ± 0.002	0.746 ± 0.001	0.438 ± 0.002	0.497 ± 0.001	0.764 ± 0.002	0.356 ± 0.002	0.498 ± 0.001
13	0.765 ± 0.001	0.492 ± 0.002	0.534 ± 0.003	0.741 ± 0.002	0.367 ± 0.002	0.567 ± 0.002	0.762 ± 0.001	0.314 ± 0.002	0.454 ± 0.002
15	0.764 ± 0.001	0.486 ± 0.001	0.522 ± 0.002	0.737 ± 0.002	0.327 ± 0.002	0.453 ± 0.002	0.758 ± 0.002	0.278 ± 0.001	0.433 ± 0.002
17	0.763 ± 0.001	0.473 ± 0.002	0.518 ± 0.002	0.733 ± 0.002	0.319 ± 0.004	0.448 ± 0.002	0.745 ± 0.002	0.215 ± 0.002	0.427 ± 0.002
19	0.762 ± 0.001	0.463 ± 0.002	0.515 ± 0.002	0.727 ± 0.002	0.312 ± 0.003	0.442 ± 0.002	0.735 ± 0.002	0.198 ± 0.002	0.414 ± 0.001
21	0.761 ± 0.002	0.458 ± 0.002	0.509 ± 0.002	0.724 ± 0.001	0.296 ± 0.002	0.437 ± 0.002	0.724 ± 0.002	0.164 ± 0.002	0.408 ± 0.002
23	0.761 ± 0.001	0.454 ± 0.003	0.503 ± 0.002	0.722 ± 0.002	0.277 ± 0.002	0.428 ± 0.003	0.714 ± 0.002	0.156 ± 0.002	0.397 ± 0.002
25	0.758 ± 0.001	0.437 ± 0.003	0.498 ± 0.002	0.718 ± 0.001	0.273 ± 0.002	0.423 ± 0.001	0.687 ± 0.003	0.144 ± 0.002	0.373 ± 0.002
27	0.757 ± 0.001	0.446 ± 0.004	0.497 ± 0.001	0.716 ± 0.002	0.266 ± 0.002	0.418 ± 0.002	0.677 ± 0.002	0.137 ± 0.002	0.368 ± 0.001
29	0.756 ± 0.001	0.437 ± 0.002	0.487 ± 0.002	0.714 ± 0.003	0.254 ± 0.002	0.415 ± 0.002	0.675 ± 0.002	0.123 ± 0.002	0.354 ± 0.002
30	0.754 ± 0.001	0.432 ± 0.002	0.485 ± 0.003	0.702 ± 0.001	0.241 ± 0.001	0.413 ± 0.001	0.673 ± 0.002	0.104 ± 0.002	0.345 ± 0.002

X: Promedio de 3 repeticiones

S: Desviación estándar

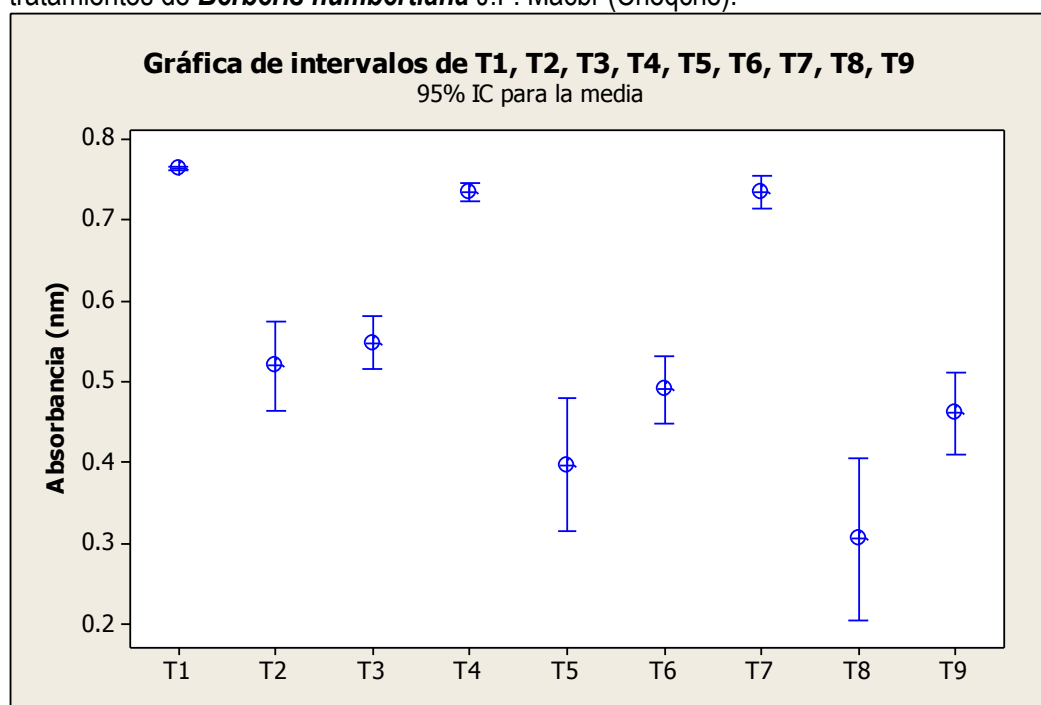
Fuente: Elaboración propia

Cuadro 30: Resultados del cálculo de la variación de absorbancia (Δ Abs) y el porcentaje de la variación de la absorbancia en 30 días de *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche).

TRATAMIENTOS	T (°C)	pH	Δ Abs	%(Δ Abs) en 30 días
T1	20	3	0.020	2.58
T2	20	4	0.332	43.41
T3	20	5	0.182	27.24
T4	30	3	0.072	9.30
T5	30	4	0.463	65.77
T6	30	5	0.223	35.06
T7	40	3	0.105	13.46
T8	40	4	0.589	85.03
T9	40	5	0.289	45.59

Fuente: Elaboración propia

Figura 43: Comparación de la media de las absorbancias (nm) de los 30 días de tratamientos de *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche).



Fuente: Elaboración propia

Interpretación: En el cuadro 29 se muestran las absorbancias obtenidas desde el día 1 hasta el día 30 para cada tratamiento, en el cuadro 30 se muestran el cálculo de la variación de absorbancias (Δ Abs) del día 1 al día 30, para calcular se utilizó la siguiente ecuación: Δ Abs = Abs_{día 1} - Abs_{día 30}, también se calculó el porcentaje de la variación de

la absorbancia en 30 días ($\%(\Delta \text{ Abs})$ en 30 días)), de los resultados obtenidos se puede apreciar que los tratamientos T1, T4 y T7 presentan valores de variación de absorbancias menores en comparación a los demás tratamientos como se puede ver en la figura 43 y el porcentaje de variación de absorbancia de estos tratamientos es 2.58%, 9.30% y 13.46% respectivamente; por ello podemos mencionar que el tratamiento que presento menor variación es el T1 a una temperatura de 20 °C a pH de 3, en 30 días varió en 2.58%.

ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DE LA VARIACIÓN DE ABSORBANCIA ($\Delta \text{ Abs}$)

CON NIVEL DE SIGNIFICANCIA $\alpha = 0.05$

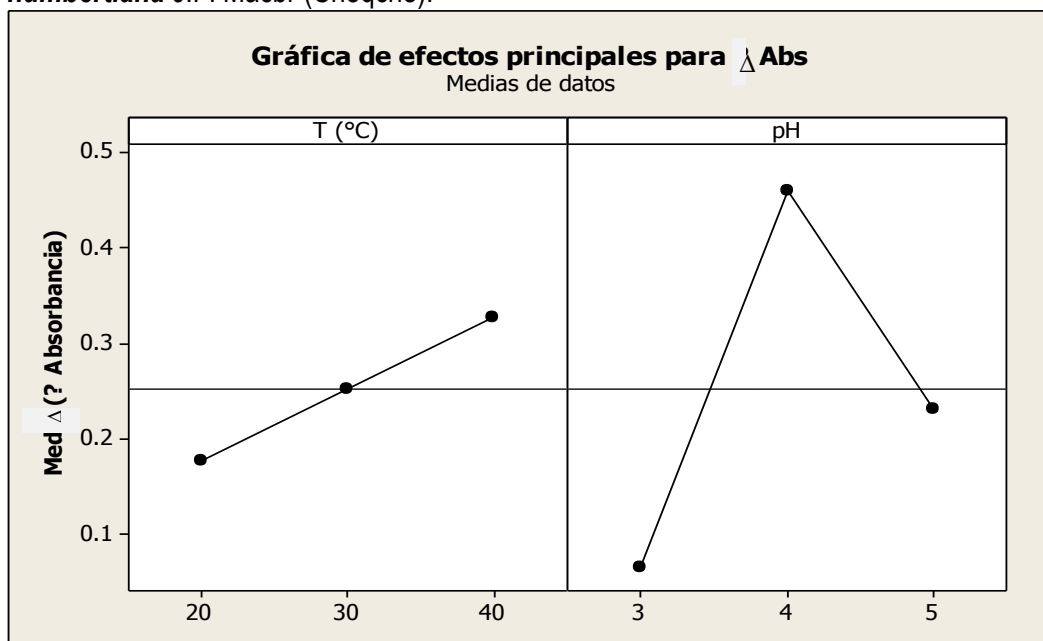
Cuadro 31: Análisis de varianza (ANOVA) de la variación de absorbancia ($\Delta \text{ Abs}$) de cada factor temperatura (T °C) y pH, para *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche).

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Efectos Principales					
A: T (°C)	0.0337	2	0.01685	7.52	0.044
B: pH	0.236883	2	0.118442	52.87	0.001
Residuos	0.008962	4	0.00224		
Total (Corregido)	0.279545	8			

Fuente: Fuente: Elaboración propia

Interpretación: El P-valor para temperatura (T °C) es menor a 0.05 y el P-valor para pH es menor a 0.05, entonces existe una diferencia estadísticamente significativo, por lo tanto podemos decir que influyen en la estabilidad de las antocianinas presentes en el fruto *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche), con un nivel del 95.0 % de confiabilidad.

Figura 44: Efectos principales para la variación de absorbancia (Δ Abs) de *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche).



Fuente: Elaboración propia

Interpretación: A temperaturas mayores y pH mayor, la variación de la absorbancia (Δ Abs) de las antocianinas de *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) es mayor, por lo tanto podemos decir que a esas condiciones es inestable la antocianina presente en dicho fruto, por la variación que presenta.

ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DE LA INTERACCIÓN DE FACTORES CON

NIVEL DE SIGNIFICANCIA $\alpha = 0.05$

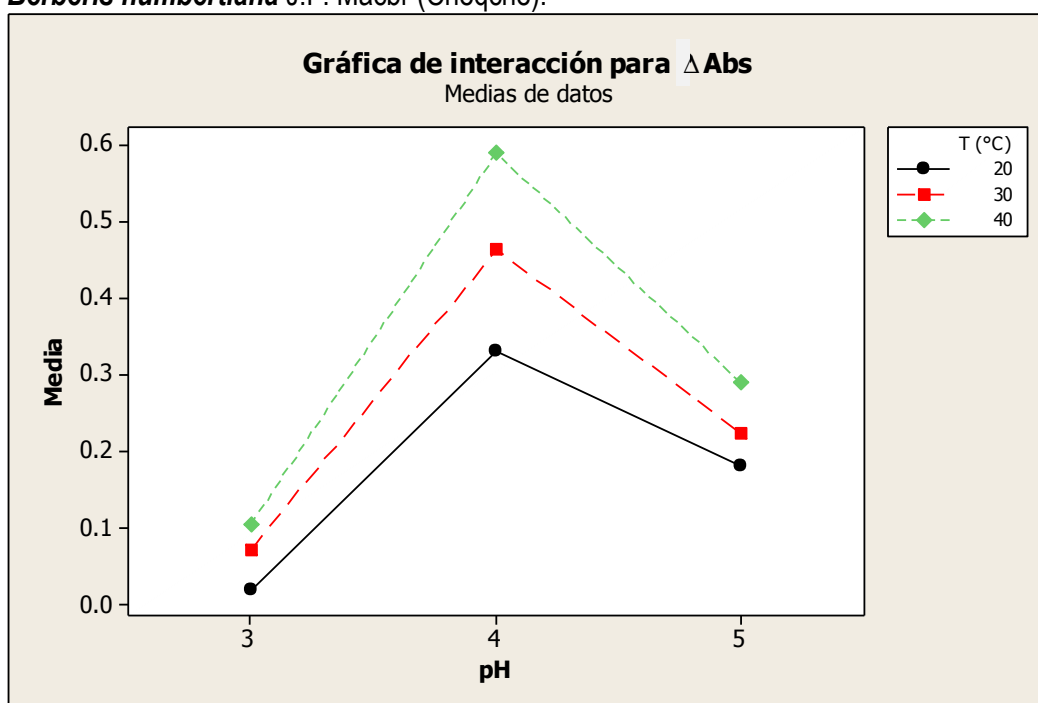
Cuadro 32: Análisis de varianza (ANOVA) de la variación de absorbancia (Δ Abs) de la interacción de los factores temperatura (T °C) y pH, para *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche).

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	4724.832	2	2362.416	93.518	4.68E-12	3.403
Dentro de los grupos	606.280	24	25.262			
Total	5331.111	26				

Fuente: Elaboración propia

Interpretación: El P-valor de la interacción de la temperatura (T °C) y pH es menor a 0.05, entonces existe una diferencia estadísticamente significativo, por lo tanto podemos decir que la interacción de los dos factores si influyen en la estabilidad de las antocianinas presentes en el fruto *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche), con un nivel del 95.0 % de confiabilidad.

Figura 45: Interacción de los factores en la variación de absorbancia (Δ Abs) de *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche).



Fuente: Elaboración propia

Interpretación: La menor variación de la absorbancia (Δ Abs) que presenta las antocianinas de *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) es a temperatura de 20 °C y un pH de 3, por lo tanto podemos decir que a medida que la temperatura y el pH baja, variación será mínimo.

3.3.4. RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DE ANTOCIANINA PRESENTE EN EL *Vaccinium floribundum* Kunth (ALAYBILÍ).

Cuadro 33: Resultados de la lectura de las absorbancia de *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí).

TRATAMIENTOS PARA <i>Vaccinium floribundum</i> Kunth (ALAYBILÍ)									
DÍAS	T1 (20°C,3pH)	T2 (20°C,4pH)	T3 (20°C,5pH)	T4 (30°C,3pH)	T5 (30°C,4pH)	T6 (30°C,5pH)	T7 (40°C,3pH)	T8 (40°C,4pH)	T9 (40°C,5pH)
	Abs-(PROM) X ± S	Abs-(PROM) X ± S	Abs-(PROM) X ± S	Abs-(PROM) X ± S	Abs-(PROM) X ± S	Abs-(PROM) X ± S	Abs-(PROM) X ± S	Abs-(PROM) X ± S	Abs-(PROM) X ± S
1	0.805 ± 0.001	0.706 ± 0.002	0.394 ± 0.002	0.977 ± 0.001	0.678 ± 0.002	0.378 ± 0.002	0.843 ± 0.002	0.693 ± 0.002	0.367 ± 0.002
3	0.755 ± 0.001	0.685 ± 0.002	0.384 ± 0.001	0.804 ± 0.003	0.662 ± 0.002	0.373 ± 0.003	0.754 ± 0.003	0.648 ± 0.001	0.364 ± 0.002
5	0.635 ± 0.003	0.677 ± 0.003	0.375 ± 0.002	0.656 ± 0.002	0.645 ± 0.002	0.367 ± 0.003	0.673 ± 0.002	0.627 ± 0.002	0.354 ± 0.002
7	0.576 ± 0.002	0.656 ± 0.002	0.368 ± 0.001	0.572 ± 0.001	0.625 ± 0.002	0.365 ± 0.003	0.545 ± 0.003	0.597 ± 0.002	0.344 ± 0.003
9	0.524 ± 0.001	0.628 ± 0.001	0.363 ± 0.002	0.502 ± 0.002	0.604 ± 0.003	0.364 ± 0.003	0.452 ± 0.002	0.578 ± 0.002	0.337 ± 0.003
11	0.478 ± 0.002	0.614 ± 0.002	0.357 ± 0.001	0.457 ± 0.001	0.586 ± 0.002	0.363 ± 0.002	0.337 ± 0.002	0.558 ± 0.002	0.335 ± 0.003
13	0.375 ± 0.002	0.587 ± 0.002	0.346 ± 0.001	0.405 ± 0.002	0.543 ± 0.002	0.362 ± 0.001	0.254 ± 0.002	0.543 ± 0.002	0.326 ± 0.002
15	0.316 ± 0.005	0.565 ± 0.002	0.343 ± 0.001	0.377 ± 0.002	0.516 ± 0.004	0.357 ± 0.002	0.148 ± 0.002	0.532 ± 0.002	0.324 ± 0.001
17	0.312 ± 0.001	0.556 ± 0.002	0.338 ± 0.002	0.335 ± 0.001	0.512 ± 0.002	0.352 ± 0.004	0.143 ± 0.002	0.529 ± 0.002	0.321 ± 0.002
19	0.296 ± 0.002	0.546 ± 0.001	0.337 ± 0.001	0.314 ± 0.003	0.504 ± 0.002	0.347 ± 0.002	0.138 ± 0.002	0.521 ± 0.003	0.319 ± 0.002
21	0.265 ± 0.002	0.537 ± 0.002	0.331 ± 0.002	0.278 ± 0.002	0.497 ± 0.002	0.342 ± 0.002	0.133 ± 0.002	0.515 ± 0.003	0.317 ± 0.002
23	0.255 ± 0.002	0.536 ± 0.001	0.327 ± 0.002	0.227 ± 0.002	0.485 ± 0.003	0.337 ± 0.002	0.129 ± 0.003	0.503 ± 0.002	0.315 ± 0.002
25	0.216 ± 0.002	0.533 ± 0.002	0.322 ± 0.002	0.219 ± 0.003	0.483 ± 0.002	0.335 ± 0.001	0.127 ± 0.008	0.498 ± 0.002	0.312 ± 0.002
27	0.196 ± 0.002	0.528 ± 0.001	0.318 ± 0.002	0.215 ± 0.002	0.478 ± 0.002	0.332 ± 0.002	0.120 ± 0.001	0.494 ± 0.002	0.307 ± 0.002
29	0.168 ± 0.002	0.527 ± 0.001	0.314 ± 0.003	0.195 ± 0.002	0.471 ± 0.003	0.328 ± 0.001	0.115 ± 0.001	0.476 ± 0.002	0.305 ± 0.002
30	0.158 ± 0.002	0.526 ± 0.001	0.305 ± 0.002	0.183 ± 0.001	0.468 ± 0.002	0.328 ± 0.001	0.112 ± 0.001	0.468 ± 0.001	0.302 ± 0.001

X: Promedio de 3 repeticiones

S: Desviación estándar

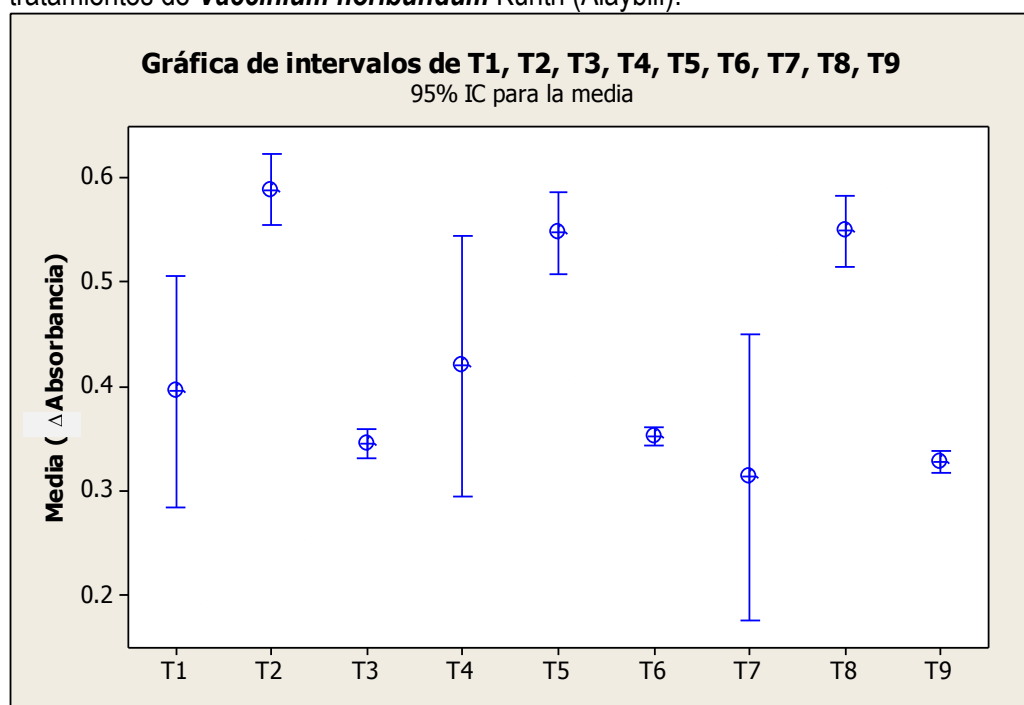
Fuente: Elaboración propia

Cuadro 34: Resultados del cálculo de la variación de absorbancia (Δ Abs) y el porcentaje de la variación de la absorbancia en 30 días de *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí).

TRATAMIENTOS	T (°C)	pH	Δ Abs	%(Δ Abs) en 30 días
T1	20	3	0.647	80.37
T2	20	4	0.180	25.46
T3	20	5	0.089	22.65
T4	30	3	0.794	81.27
T5	30	4	0.210	30.99
T6	30	5	0.050	13.15
T7	40	3	0.731	86.71
T8	40	4	0.225	32.44
T9	40	5	0.065	17.79

Fuente: Elaboración propia

Figura 46: Comparación de la media de las absorbancias (nm) de los 30 días de tratamientos de *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí).



Fuente: Elaboración propia

Interpretación: En el cuadro 33 se muestran las absorbancias obtenidas desde el día 1 hasta el día 30 para cada tratamiento, en el cuadro 34 se muestran el cálculo de la variación de absorbancias (Δ Abs) del día 1 al día 30, para calcular se utilizó la siguiente ecuación: Δ Abs = Abs_{día 1} - Abs_{día 30}, también se calculó el porcentaje de la variación de

la absorbancia en 30 días ($\%(\Delta \text{ Abs})$ en 30 días)), de los resultados obtenidos se puede apreciar que los tratamientos T3, T6 y T9 presentan valores de variación de absorbancias menores en comparación a los demás tratamientos como se puede ver en la figura 46 y el porcentaje de variación de absorbancia de estos tratamientos es 22.65%, 13.15% y 17.79% respectivamente; por ello podemos mencionar que el tratamiento que presento menor variación es el T6 a una temperatura de 30 °C a pH de 5, en 30 días varió en 13.15%.

ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DE LA VARIACIÓN DE ABSORBANCIA ($\Delta \text{ Abs}$)

CON NIVEL DE SIGNIFICANCIA $\alpha = 0.05$

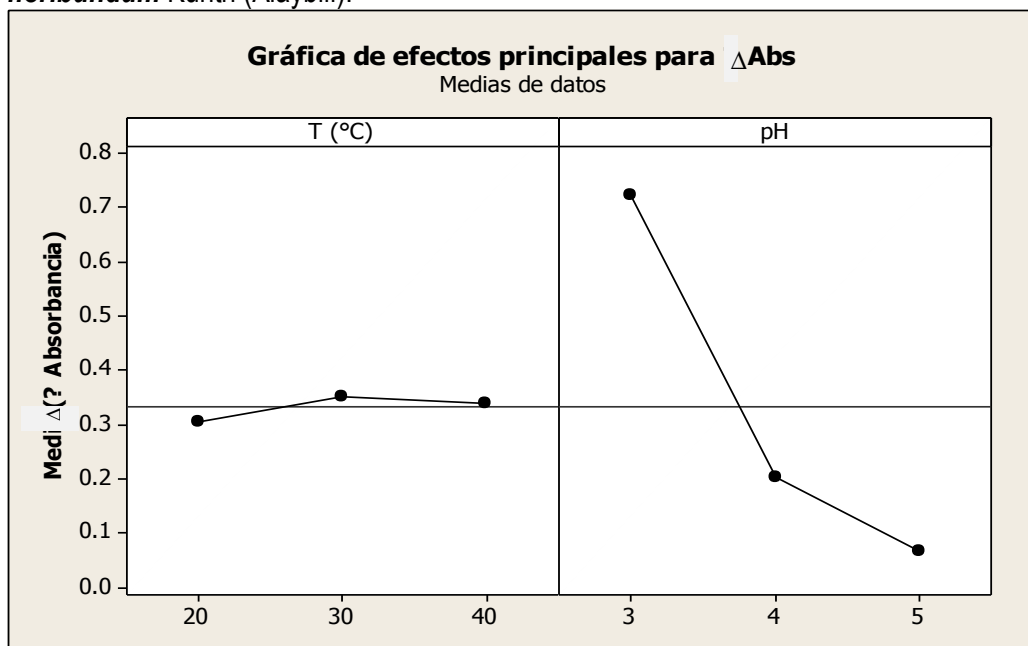
Cuadro 35: Análisis de varianza (ANOVA) de la variación de absorbancia ($\Delta \text{ Abs}$) de cada factor temperatura (T °C) y pH, para *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybili).

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Efectos Principales					
A: T (°C)	0.00345	2	0.00172	0.74	0.531
B: pH	0.71846	2	0.35923	154.83	0
Residuos	0.00928	4	0.00232		
Total (Corregido)	0.73119	8			

Fuente: Elaboración propia

Interpretación: El P-valor para temperatura (T °C) es mayor a 0.05, entonces no existe una diferencia estadísticamente significativo, sin embargo el P-valor correspondiente al pH es menor a 0.05, entonces existe una diferencia estadísticamente significativo, por lo tanto podemos decir que la temperatura (T °C) no influyen en la estabilidad de las antocianinas presentes en el fruto *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybili), pero si influye significativamente pH en la estabilidad de las antocianinas presentes en el fruto, con un nivel del 95.0 % de confiabilidad.

Figura 47: Efectos principales para la variación de absorbancia (Δ Abs) de *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybili).



Fuente: Elaboración propia

Interpretación: A temperaturas mayores y pH mayor, la variación de la absorbancia (Δ Abs) de las antocianinas de *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybili) es mayor, por lo tanto podemos decir que a esas condiciones es inestable la antocianina presente en dicho fruto, por la variación que presenta.

ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DE LA INTERACCIÓN DE FACTORES CON

NIVEL DE SIGNIFICANCIA $\alpha = 0.05$

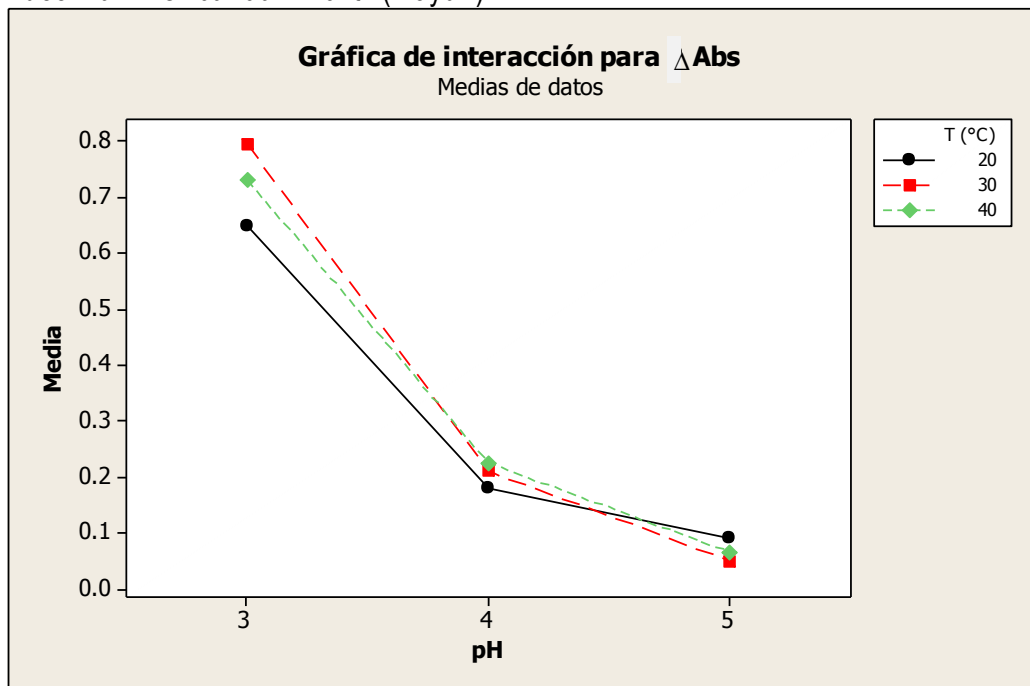
Cuadro 36: Análisis de varianza (ANOVA) de la variación de absorbancia (Δ Abs) de la interacción de los factores temperatura (T °C) y pH, para *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybili).

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	4708.874	2	2354.437	93.133	4.89E-12	3.403
Dentro de los grupos	606.731	24	25.280			
Total	5315.605	26				

Fuente: Elaboración propia

Interpretación: El P-valor de la interacción de la temperatura (T °C) y pH es menor a 0.05, entonces existe una diferencia estadísticamente significativo, por lo tanto podemos decir que la interacción de los dos factores si influyen en la estabilidad de las antocianinas presentes en el fruto *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybili), con un nivel del 95.0 % de confiabilidad.

Figura 48: Interacción de los factores en la variación de absorbancia (Δ Abs) de *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybili).



Fuente: Elaboración propia

Interpretación: La menor variación de la absorbancia (Δ Abs) que presenta las antocianinas de *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybili) es a temperatura de 30 °C y un pH de 5, por lo tanto podemos decir que a medida que la temperatura sube y el pH sube, variación será mínimo.

IV. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1. DISCUSIÓN DE RESULTADOS DE LA IDENTIFICACIÓN DE LAS ANTOCIANIDINAS POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (HPLC).

Se identificó a las antocianidinas que tenían patrones para realizar la comparación, los tiempos de retención y los porcentajes de las antocianidinas están relacionados con la polaridad que presenta cada antocianidina con la columna que es la fase estacionaria, la fase móvil permite hacer la separación de los compuestos de la muestra, también la fase móvil evita que se quede el compuesto en la columna, ésta es el mecanismo que ocurre durante el análisis de la muestra en el HPLC, previo al análisis de la muestra con el HPLC se realizó la hidrólisis ácida a la muestra con la finalidad de eliminar el azúcar de la estructura de la antocianina, por lo tanto se reduce la polaridad de la molécula, volviéndola más compatible con la fase estacionaria (columna), de modo que la elución con la fase móvil tarda más tiempo. (Strack y Wray, 1989).

Se identificaron las antocianidinas y sus respectivos porcentajes por HPLC, en el fruto de ***Hesperomeles escalloniifolia*** Schltdl (Capachu), la **delfinidina** 15.6670 %, **cianidina** 7.1910 %, **petunidina** 11.9153 %, **peonidina** 3.6915 % y **malvidina** 7.8487 %, en ***Berberis cummutata*** Eichler (Huancachu) se identificó una sola antocianidina **cianidina** 74.0942 %, en ***Berberis humbertiana*** J.F. Macbr (Cheqche), la **delfinidina** 25.1358 %, **cianidina** 14.5984 %, **petunidina** 14.6663 %, **peonidina** 1.9088 % y **malvidina** 14.8219 %) y en ***Vaccinium floribundum*** Kunth (Alaybilí) se identificó una sola antocianidina **cianidina** 87.8791 %).

Peguero, (2007). Identificó 5 antocianidinas (pelargonídicas, cianídicas, petunídicas, malvinídicas y peonídicas) en frejol rojo (***Phaseolus vulgaris*** L) en las variedades seda y dorado, si comparamos este resultado con el resultado obtenido en la presente

investigación, los cuatro frutos no presentan la antocianidina pelargonidina, por lo tanto esta antocianidina si se encuentra en frejol variedad seda como también en fresa.

Cuevas, et al., (2008). Realizó el análisis y caracterización de antocianinas en diferentes variedades de maíz (***Zea mays***) donde encontró las antocianinas mayoritarias identificadas en los granos de maíz de las variedades estudiadas fueron la cianidina-3-glucósido y la cianidina-3- (6"malonil)-glucósido respectivamente, sin embargo en los cuatro frutos investigados se encuentra esta antocianidina al igual que en el maíz, pero esta antocianidina se encuentra en mayor porcentaje en los frutos de ***Vaccinium floribundum*** Kunth (Alaybilí) en un 87.8791 % del total de la antocianidina presente y en ***Berberis cummutata*** Eichler (Huancachu) en un 74.0942 % del total de la antocianidina presente en dicho fruto.

Aguilera, (2009). Por medio de HPLC separó e identificó la cianidina como única antocianina presente en el higo, en esta investigación los cuatro frutos presentan la cianidina, pero esta antocianidina se encuentra en mayor porcentaje en los frutos de ***Vaccinium floribundum*** Kunth (Alaybilí) y ***Berberis cummutata*** Eichler (Huancachu) en porcentajes 87.8791 y 74.0942 % respectivamente, pero sin embargo aun existen antocianidinas no identificadas en estos frutos, si comparamos con la antocianidina presente en fruto de higo con los frutos estudiados, dichos frutos lo superan.

Del Carpio, (2009). Realizó la caracterización de las antocianinas de los frutos de ***Berberis boliviana*** Lechler y análisis por HPLC-PDA (Cromatografía Líquida de Alta Resolución, con detector con arreglo de fotodiodos) de la muestra hidrolizada mostró la presencia de 5 aglicones: delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina, las cuales fueron identificadas por comparación de los picos del cromatograma obtenido al correr simultáneamente una muestra del pigmento de los frutos de uva (*Vitis vinífera*).

El análisis por HPLC - espectrometría de masas Tandem, confirmó la presencia de 10 picos y los pesos moleculares permitieron conocer las antocianinas presentes en *Berberis boliviana* Lechler, las cuales son: delfinidina-3-glucosido, delfinidina-3-rutinosido, cianidina-3-glucosido, cianidina-3-rutinosido, petunidina-3-glucosido, petunidina-3-rutinosido, peonidina-3-glucosido, peonidina-3-rutinosido, malvidina-3-glucosido y malvidina-3-rutinosido y la **petunidina-3-glucosido** fue identificada como el principal pigmento, en una concentración de 24,43%.

Las antocianidinas identificadas en los frutos de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltdl (Capachu), fue la **delfinidina** 15.6670 %, **cianidina** 7.1910 %, **petunidina** 11.9153 %, **peonidina** 3.6915 % y **malvidina** 7.8487 % y *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche), la **delfinidina** 25.1358 %, **cianidina** 14.5984 %, **petunidina** 14.6663 %, **peonidina** 1.9088 % y **malvidina** 14.8219 %), realizado la comparación de estos dos frutos con el de *Berberis boliviana* Lechler presentan las mismas antocianidinas con la diferencia de los porcentajes de cada una de las antocianidinas, es así que en *Berberis boliviana* Lechler la antocianidina predominante es la petunidina-3-glucosido y se encuentra en 24.43% mientras en *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) es la delfinidina y se encuentra en 25.1358 %.

Teves, et al., (2011). Identificaron las antocianidinas por HPLC y por comparación con los cromatogramas de los patrones de referencia de las especies *Vitis vinifera* (Uva) y *Fragaria vesca* (Fresa) son: *Monnina salcifolia* R. & P. (Aceitunilla): delfinidina y cianidina, *Muehlenbeckia volcánica* (Benth.) Endl. (Mullak'a): cianidina, *Prunus serótina* (Capuli): cianidina, sin embargo en las cuatro especies investigados se identificaron las antocianidinas que existen en estas tres especies, en *Hesperomeles escalloniifolia* Schltdl (Capachu) y *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) se

identifico delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina, mientras en *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu) y *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí) se identifico la cianidina, por lo tanto se asemeja con las especies *Muehlenbeckia volcánica* (Benth.) Endl. (Mullak'a): cianidina, *Prunus serótina* (Capuli): cianidina.

4.2. DISCUSIÓN DE RESULTADOS DE LA CUANTIFICACIÓN DEL TOTAL DE ANTOCIANINAS MEDIANTE EL MÉTODO DEL pH DIFERENCIAL.

El contenido de antocianinas en los frutos evaluados varía de acuerdo a la especie vegetal en fruto seco sin semillas de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltld (Capachu) tiene un contenido total de antocianinas de **2026.201 mg/100 g**, en el fruto seco sin semillas de *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu) tiene un contenido total de antocianinas de **1271.809 mg/100 g**, en el fruto seco con semillas de *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) tiene un contenido total de antocianinas de **2306.297 mg/100 g**, en el fruto seco con semillas de *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí) tiene un contenido total de antocianinas que es de **319.170 mg/100 g**.

Comparado el contenido de antocianinas en los cuatro especies la que presenta mayor contenido es *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) con **2306.297 mg/100 g** seguido por *Hesperomeles escalloniifolia* Schltld (Capachu) con **2026.201 mg/100 g**, *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu) con **1271.809 mg/100 g** y finalmente por *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí) con **319.170 mg/100 g**.

Los frutos maduros de cada planta estudiada presentan diferentes coloraciones e intensidades de color lo cual esta relacionado con la cantidad de antocianinas (pigmentos responsables del color de los frutos) determinadas para cada una de ellas, teniendo para los frutos de *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche),

Hesperomeles escalloniifolia Schltl (Capachu) y ***Berberis cummutata*** Eichler (Huancachu) un color morado intenso tanto para la capa epidérmica como la pulpa, para el fruto de ***Vaccinium floribundum*** Kunth (Alaybili) un color rojo oscuro solo en la capa epidérmica, estas características influyen en el contenido de antocianinas, por lo tanto podemos concluir en lo siguiente aquellos frutos que tienen una coloración morado intenso, rojo intenso presentan mayor contenido de antocianinas.

Según los resultados encontrados, podemos inferir que las especies ***Berberis humbertiana*** J.F. Macbr (Cheqche), ***Hesperomeles escalloniifolia*** Schltl (Capachu) son una de las especies promisorias de los cuatro estudiados en esta investigación, pues tienen un contenido de antocianinas de **2306.297 mg/100 g** y **2026.201 mg/100 g** respectivamente, si comparamos con algunas otras fuentes ricas en antocianinas como arandanos (***Vaccinium myrtillus***) que es una fuente de antocianinas muy conocida y con un alto contenido de antocianinas que varía entre 300 – 320 mg/100 g de fruto también el sauco (***Sambucus nigra***) que tiene 450 mg/100 g de fruto (Wrolstad, 2002), los cuatro frutos estudiados superan, por lo tanto podemos decir que estos frutos tienen alto contenido de antocianinas.

Vélez, et al., (2008). Cuantificó el contenido de antocianinas en el maíz morado (***Zea mays L.***) y obtuvo una concentración **219. 1250 mg/ mL**, **Aguilera, (2009)**. Utilizando la misma metodología cuantifico el contenido de antocianinas de higo morado (***Ficus carica***) que fue **162 mg/ 100 g** de tejido epidermal, **Pastrana, et al., (2009)**. Cuantificó el contenido de antocianinas en la uva mascadinas por cromatografía y espectrometría de masas que fue de **75 mg/100g** de fruta fresca en las uvas púrpuras, **Leyva, (2009)**. Cuantificó el contenido de antocianinas en mora (***Rubus spp***) que fue **183.63 mg de cianidina 3-glucósido/100 g de fruto fresco**, **Del Carpio, (2009)**. Cuantificó el

contenido de antocianinas en *Berberis boliviana* Lechler con la misma metodología que es **7 g/100 g en el tejido separado de las semillas del fruto seco**, si comparamos con la cuantificación de los frutos estudiados existe una diferencia muy grande, sin embargo en la cuantificación de antocianinas de *Berberis boliviana* Lechler se utilizó para dicho análisis fruto seco sin semillas mientras que para *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) se utilizó frutos con semillas esta es la que hace que exista una diferencia grande debido a que este fruto tiene más semilla en comparación a la pulpa o el tejido epidermal donde se encuentran las antocianinas, Juli, et al., (2011). Cuantificó el contenido de antocianinas en dos clones de papas nativas **pulpa azul y roja** (80.44 mg/100 g) y (16.83 mg/100 g) respectivamente, Teves, et al., (2011). Cuantificó el contenido de antocianinas en *Muehlenbeckia volcánica* (Benth.) Endl. (Mullak'a) 2000 mg/100 g en frutos secos, para *Monnina salcifolia* R. & P. (Aceitunilla) 100 mg/ 100 g en frutos secos y para *Prunus serótina* (Capuli) 0.0878 mg/100 g en frutos secos. Comparados el contenido de antocianinas de las especies ya estudiadas el *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) y *Hesperomeles escalloniifolia* Schltl (Capachu) superan en contenido de antocianinas presentes sus frutos.

4.3. DISCUSIÓN DE RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DE ANTOCIANINAS PRESENTES EN LOS FRUTOS *Hesperomeles escalloniifolia* Schltl (CAPACHU), *Berberis cummutata* Eichler (HUANCACHU), *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (CHEQCHE) Y *Vaccinium floribundum* Kunth (ALAYBILÍ).

- ✓ Resultados obtenidos de la evaluación de la estabilidad de las antocianinas presentes en *Hesperomeles escalloniifolia* Schltl (Capachu), después de evaluar la estabilidad

durante 30 días se encontró tratamientos como T1, T4 y T7 que presentan valores de variación de absorbancias menores en comparación a los demás tratamientos y el porcentaje de variación de absorbancia de estos tratamientos es 4.53%, 13.53% y 10.98% respectivamente; por ello podemos mencionar que el tratamiento que presento menor variación es el T1 a una temperatura de 20 °C a pH de 3, en 30 días varió en 4.53%.

Según el análisis de varianza los valores de P-valor es superior a 0.05 para los dos factores esto nos indica que la temperatura a 20, 30 y 40 °C y el pH a 3; 4 y 5 no influyen en la estabilidad de la antocianina presente en el fruto ***Hesperomeles escalloniifolia*** Schltdl (Capachu), evaluado los efectos principales para la variación de absorbancia (Δ Abs) nos indica que a temperaturas mayores y pH mayor, la variación de la absorbancia (Δ Abs) de las antocianinas de ***Hesperomeles escalloniifolia*** Schltdl (Capachu) es mayor, por lo tanto podemos decir que a esas condiciones es inestable la antocianina presente en dicho fruto, por la variación que presenta, sin embargo el P-valor de la interacción de la temperatura (T °C) y pH es menor a 0.05, entonces existe una diferencia estadísticamente significativo, por lo tanto podemos decir que la interacción de los dos factores si influyen en la estabilidad de las antocianinas presentes en el fruto ***Hesperomeles escalloniifolia*** Schltdl (Capachu), con un nivel del 95.0 % de confiabilidad.

- ✓ Resultados obtenidos de la evaluación de la estabilidad de las antocianinas presentes en ***Berberis cummutata*** Eichler (Huancachu), después de evaluar la estabilidad durante 30 días se encontró tratamientos T3, T6 y T9 presentan valores de variación de absorbancias menores en comparación a los demás tratamientos y el porcentaje de

variación de absorbancia de estos tratamientos es 7.22%, 23.58% y 17.75% respectivamente; por ello podemos mencionar que el tratamiento que presentó menor variación es el T3 a una temperatura de 20 °C a pH de 5, en 30 días varió en 7.22%.

Según el análisis de varianza los valores de P-valor es superior a 0.05 para los dos factores esto nos indica que la temperatura a 20, 30 y 40 °C y el pH a 3; 4 y 5 no influyen en la estabilidad de la antocianina presente en el fruto ***Berberis cummutata*** Eichler (Huancachu), evaluado los efectos principales para la variación de absorbancia (Δ Abs) nos indica que a temperaturas mayores y pH menor, la variación de la absorbancia (Δ Abs) de las antocianinas de ***Berberis cummutata*** Eichler (Huancachu) es mayor, por lo tanto podemos decir que a esas condiciones es inestable la antocianina presente en dicho fruto, por la variación que presenta, sin embargo el P-valor de la interacción de la temperatura (T °C) y pH es menor a 0.05, entonces existe una diferencia estadísticamente significativo, por lo tanto podemos decir que la interacción de los dos factores si influyen en la estabilidad de las antocianinas presentes en el fruto ***Berberis cummutata*** Eichler (Huancachu), con un nivel del 95.0 % de confiabilidad.

- ✓ Resultados obtenidos de la evaluación de la estabilidad de las antocianinas presentes en ***Berberis humbertiana*** J.F. Macbr (Cheqche), después de evaluar la estabilidad durante 30 días se encontró tratamientos T1, T4 y T7 presentan valores de variación de absorbancias menores en comparación a los demás tratamientos y el porcentaje de variación de absorbancia de estos tratamientos es 2.58%, 9.30% y 13.46% respectivamente; por ello podemos mencionar que el tratamiento que presentó menor variación es el T1 a una temperatura de 20 °C a pH de 3, en 30 días varió en 2.58%. Según el análisis de varianza los valores de P-valor es inferior a 0.05 para los dos factores esto nos indica que la temperatura a 20, 30 y 40 °C y el pH a 3; 4 y 5 influyen

en la estabilidad de la antocianina presente en el fruto *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche), evaluado los efectos principales para la variación de absorbancia (Δ **Abs**) nos indica que a temperaturas mayores y pH mayor, la variación de la absorbancia (Δ **Abs**) de las antocianinas de *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) es mayor, por lo tanto podemos decir que a esas condiciones es inestable la antocianina presente en dicho fruto, por la variación que presenta, sin embargo el P-valor de la interacción de la temperatura (T °C) y pH es menor a 0.05, entonces existe una diferencia estadísticamente significativo, por lo tanto podemos decir que la interacción de los dos factores si influyen en la estabilidad de las antocianinas presentes en el fruto *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche), con un nivel del 95.0 % de confiabilidad.

- ✓ Resultados obtenidos de la evaluación de la estabilidad de las antocianinas presentes en *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí), después de evaluar la estabilidad durante 30 días se encontró tratamientos T3, T6 y T9 presentan valores de variación de absorbancias menores en comparación a los demás tratamientos y el porcentaje de variación de absorbancia de estos tratamientos es 22.65%, 13.15% y 17.79% respectivamente; por ello podemos mencionar que el tratamiento que presento menor variación es el T6 a una temperatura de 30 °C a pH de 5, en 30 días varió en 13.15%. Según el análisis de varianza los valores de P-valor es superior a 0.05 para temperatura a 20, 30 y 40 °C, entonces no existe una diferencia estadísticamente significativo, sin embargo el P-valor correspondiente al pH es menor a 0.05, entonces existe una diferencia estadísticamente significativo, por lo tanto podemos decir que la temperatura (T °C) no influyen en la estabilidad de las antocianinas presentes en el fruto *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí), pero si influye significativamente pH en la estabilidad de

las antocianinas presentes en el fruto, evaluado los efectos principales para la variación de absorbancia (ΔAbs) nos indica que a temperaturas mayores y pH mayor, la variación de la absorbancia (ΔAbs) de las antocianinas de *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí) es mayor, por lo tanto podemos decir que a esas condiciones es inestable la antocianina presente en dicho fruto, por la variación que presenta, sin embargo el P-valor de la interacción de la temperatura (T °C) y pH es menor a 0.05, entonces existe una diferencia estadísticamente significativo, por lo tanto podemos decir que la interacción de los dos factores si influyen en la estabilidad de las antocianinas presentes en el fruto *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí), con un nivel del 95.0 % de confiabilidad.

Fuentes, (2005). Evaluó la estabilidad de las antocianinas en los frutos de *Prunus capuli Cav.* (Cereza), *Rubus urticaefolius Poir.* (Mora) y *Sambucus canadensis L.* (Saúco) y compara con el colorante artificial rojo N° 2 y reporta que las antocianinas en los frutos de Cereza a pH 4 y 5, Mora pH 5 y Saúco pH 5, presentan las características para ser utilizados como alternativas naturales del colorante artificial rojo N° 2.

Aguilera, (2009). Evaluó la estabilidad de las antocianinas de higo morado (*Ficus carica*) y se demostró que la mayor estabilidad de antocianinas extraídas de higo Mission se presenta a un pH de 3.0 a 4 °C y en oscuridad, conservándose durante 14 días.

Valle, et al., (2011). Evaluó la estabilidad de las antocianinas de zanahoria púrpura (*Daucus carota*) durante almacenamiento a 3 diferentes temperaturas; Ambiente, 5 °C y 10 °C. Por un periodo de almacenamiento de 11 días y el mejor resultado fue a temperatura de 5 °C la que conservó mejor las Antocianinas (97.03%).

Martínez, et al., (2011). Evaluó la estabilidad de las antocianinas de **Jugo y**

Concentrado de Agraz (*Vaccinium meridionale Sw*) la degradación de las antocianinas fue mayor para el jugo que para el concentrado. Una disminución significativa en la estabilidad de las antocianinas del concentrado se observó a pH cercano a 5. **Almeida, (2012)**. Evaluó la estabilidad la antocianina de maíz negro (***Zea mays L.***) y menciona que son sensibles a la temperatura y el pH, se determinó que el extracto colorante de las antocianinas del maíz negro permanece estable a rangos de pH 2-6, y a temperatura de 10 °C - 50 °C y el tiempo de vida útil del extracto solido de las corontas de maíz negro es de 60 días.

La interaccion de los dos factores temperatura (T °C) y pH influyen en la estabilidad de las antocianinas presentes en los 4 frutos, sin embargo realizo el análisis para cada factor en algunos frutos no influyen, se debe aque los frutos se difieren en tipo de antocianidinas que presentan, comparados el ***Berberis humbertiana*** J.F. Macbr (Cheqche) y ***Hesperomeles escalloniifolia*** Schltld (Capachu) presentan las mismas antocianidinas pero diferentes proporciones y presentan una estabilidad mejor a temperaturas menores y a pH menor, sin embargo los frutos de ***Vaccinium floribundum*** Kunth (Alaybilí) y ***Berberis cummutata*** Eichler (Huancachu) la estabilidad es mejor a pH: 4 y 5 y temperaturas menores, estos frutos presentan una sola antocianidina (cianidina), por lo tanto podemos mencionar que el tipo de antocianidina en el fruto influye en las condiciones de la estabilidad.

Estudios realizados a diferentes valores de pH muestran que a pH bajo la antocianina está predominantemente en forma de catión flavilio, de manera que al disminuir el pH aumenta la concentración del catión flavilio por lo que el co-pigmento interacciona directamente con éste, este efecto brindará mayor estabilidad y capacidad a la antocianina de actuar como colorante, ya que como se indicó a pH 3 habrá mayor

proporción de catión flavilio que a pH 5 y en consecuencia se espera que sea más estable la solución a pH 3 y que aumente el poder de tinción del colorante debido al efecto hipercrómico. Esto se observó claramente en el caso de las soluciones preparadas con el extracto de ***Berberis humbertiana*** J.F. Macbr (Cheqche) y ***Hesperomeles escalloniifolia*** Schltl (Capachu) que presentó diferente valor de variación de absorbancia a pH 3 y pH 5, esto incidió en la estabilidad de las antocianinas, en donde se observó debido a que al disminuir el pH las muestras se hacen más estables, según se puede comprobar con los resultados de estabilidad en función al porcentaje de variación de absorbancias de la antocianinas presentes en los frutos de ***Berberis humbertiana*** J.F. Macbr (Cheqche) y ***Hesperomeles escalloniifolia*** Schltl (Capachu) a pH 4 y pH 5 a la misma temperatura (20 °C, 30 °C y 40 °C). **Hoshino, T. et. al. (1980). Baublis, A. et. al. (1994). Kuklindki, C. (2000).**

Respecto a la temperatura, diversos estudios demuestran una relación entre la temperatura, la estabilidad e intensidad del color que presentan las soluciones preparadas utilizando antocianinas. Investigaciones realizadas muestran que un incremento en la temperatura permiten un rompimiento de la asociación entre el catión flavilio con el co-pigmento, esto confirma la relación inversa entre la temperatura y el grado de co-pigmentación, este efecto se observó en los resultados, ya que todos los extractos acuosos antociánicos presentaron mayor estabilidad a menores temperaturas, esto se evidencio debido a que hubo menor decoloración de los extractos o menor variación de absorbancias (Δ **Abs**), además, determinaciones termodinámicas demuestran que la formación de la especie chalcona a partir de la hemiacetalica de la antocianina, por consiguiente, cualquier aumento en la temperatura favorece el incremento de la forma chalcona (incolora) presente en el equilibrio, lo que se confirmó

con cada una de las muestras, ya que a 20 °C más estable que a 40 °C al mismo valor de pH. **Brouillard, R. et. al. (1989).** **Brouillard, R. And Delaporte, B. (1977).** Estudios demuestran que a menor temperatura y con la adición de azúcares, se retiene por mayor cantidad de tiempo el color de las soluciones que contienen antocianinas. **Turkey, N. et. al. (2004).**

V. CONCLUSIONES

- ✓ Se identificaron las antocianinas y sus respectivos porcentajes por HPLC, en el fruto de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltdl (Capachu), la **delfinidina** 15.6670 %, **cianidina** 7.1910 %, **petunidina** 11.9153 %, **peonidina** 3.6915 % y **malvidina** 7.8487 %, en *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu) se identificó una sola antocianidina **cianidina** 74.0942 %, en *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche), la **delfinidina** 25.1358 %, **cianidina** 14.5984 %, **petunidina** 14.6663 %, **peonidina** 1.9088 % y **malvidina** 14.8219 %) y en *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybili) se identificó una sola antocianidina **cianidina** 87.8791 %).
- ✓ El contenido de antocianinas totales en los frutos evaluados varía de acuerdo a la especie vegetal, se reporta para el fruto de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltdl (Capachu) en fruto seco sin semillas tiene un contenido total de antocianinas de **2026.201 mg/100 g**, *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu) en fruto seco sin semillas tiene un contenido total de antocianinas de **1271.809 mg/100 g**, *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) en fruto seco con semillas tiene un contenido total de antocianinas de **2306.297 mg/100 g**, *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybili) en fruto seco con semillas tiene un contenido total de antocianinas de **319.170 mg/100 g**.
- ✓ Las antocianinas presentes en los frutos de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltdl (Capachu) presenta una mejor estabilidad a una temperatura de 20 °C a pH de 3, en 30 días varió en 4.53% la absorbancia, *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu) presenta una mejor estabilidad a una temperatura de 20 °C a pH de 5, en 30 días varió en 7.22% la absorbancia, *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) presenta una

mejor estabilidad a una temperatura de 20 °C a pH de 3, en 30 días varió en 2.58% la absorbancia y *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí) presenta una mejor estabilidad a una temperatura de 30 °C a pH de 5, en 30 días varió en 13.15% la absorbancia.

RECOMENDACIONES

- ✓ Determinar los costos de producción de los colorantes antocianicos provenientes de los frutos de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltdl (Capachu), *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu), *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) y *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí) y compararlos con los costos de producción de colorantes obtenidos a partir de las cáscaras de uva, que es la fuente principal de colorantes antocianicos a nivel mundial.
- ✓ Realizar estudios sobre la estabilidad de los colorantes antocianicos presentes en los de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltdl (Capachu), *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu), *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) y *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí) en productos agroindustriales alimentarios (bebidas fermentadas, bebidas carbonatadas, néctares, confitería, salsas, helados, etc.), en productos farmacéuticos y cosméticos, de esta forma para determinar si es factible el uso de estos en estos productos y evaluar la estabilidad en un tiempo mayor según la vida útil del producto.
- ✓ Identificar los picos que aun no han sido identificados por falta de patrones de comparación en los frutos de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltdl (Capachu), *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu), *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) y *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí).
- ✓ Evaluar el impacto económico, social y ambiental que podría generar la industrialización de estas plantas, en las comunidades donde se desarrollan.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Aguilar, Z., Ulloa, C. e Hidalgo, P., (2009).** “Plantas Útiles de los Páramos de Zuleta, Ecuador”, *Proyecto de Manejo y Aprovechamiento Sustentable de Alpacas en los Páramos de Zuleta*, PPA-EcoCiencia, Quito, Ecuador, p. 43.
2. **Aguilera, M. (2009).** *Caracterización y estabilidad de antocianinas de higo, variedad Mission*. Revista Uciencia, pp. 151-158.
3. **Aguilera, et al., (2011).** *Propiedades funcionales de las antocianinas*. Revista de ciencias biológicas y de la salud, pp. 16-22.
4. **Almeida, G. (2012).** *Extracción y caracterización del colorante natural del maíz negro (Zea mays L.) y determinación de su actividad antioxidante*. Tesis de pregrado, Facultad de ingeniería química y agroindustrial, carrera profesional de ingeniería agroindustrial, Escuela Politécnica Nacional, Ecuador.
5. **Arenas, I. (2004).** *Espectrofotometría de absorción*. Cuernavaca, México. Universidad Nacional Autónoma de México.
6. **Badui, D. S. (1993).** *Química de los alimentos*. Addison Wesley Longman de México, S. A. DE C. V. México D. F., México.
7. **Baublis, A. et. al. (1994).** *Anthocyanin Pigments: Comparison of Extract Stability*. Journal Of Food Science. 59(6). EE.UU.
8. **Bawerman, J. (1980).** *Introducción a la bioquímica de los alimentos*. Editorial El manual moderno, S.A. DE C. V. México D. F., México.
9. **Bernal, H. (1989).** *Berberidaceae en: Especies promisorias vegetales de los países del Convenio Andrés Bello*. 2da Edición. Bogotá–Colombia.
10. **Brouillard, R. And Delaporte, B. (1977).** *Chemistry of Anthocyanin Pigments. Kinetic and Thermodynamic Study of Proton Transfer, Hidration, and Tautomeric Reactions of Malvidin-3-Glucoside*. Journal of the American Chemical Society. (2 1). EE.UU.

11. **Brouillard, R. et al. (1989).** *The Co-pigmentation Reaction of Anthocyanins: A Microprobe for the Structural Study of Aqueous Solutions.* J. Am. Chem. Soc. (11 I). EE.UU.
12. **Cano, L. (2011).** *Extracción y uso de tres pigmentos naturales a partir de Tomate de árbol (Solanum betaceum Cav.), Mortiño (Vaccinium myrtillus L.) y Mora de castilla (Rubus glaucus) como alternativa colorante natural para alimentos.* Tesis de pregrado, Facultad de ciencias agropecuarias, Escuela politécnica, Sangolqui.
13. **Cuevas, et al., (2008).** *Análisis y caracterización de antocianinas en diferentes variedades de maíz (Zea mays) Boliviano.* Revista red alfa lagrotech, pp. 79-95.
14. **Del Carpio Jiménez, Carla. (2006).** *Estudio del colorante de los frutos de Berberis boliviana Lechler "Cheqche",* Tesis para optar al grado académico de Magister en Ciencias, mención Química, especialidad Productos Naturales en la Escuela de Post Grado de la UNSAAC, Peru.
15. **De La Parra, C.; Serna, S. S. O. y Hai, L. R., (2007).** *Effect of processing on the phytochemical profiles and antioxidant activity of corn for production of masa, tortillas, and tortilla chips.* J. Agric. Food Chem.
16. **Feakes, D.M; Giusti, M.M, (2003).** *Feasibility of the use of acylated anthocyanins to color low acid dairy products,* 2003 IFT Annual Meeting – Chicago.
17. **Fennema, O. (2000).** *Química de los Alimentos.* Editorial. Acribia, S.A. Zaragoza, España.
18. **Fuentes, W. (2005).** *Extracción, cuantificación y estabilidad de colorantes naturales presentes en los frutos de Prunus capuli Cav. (Cereza), Rubus urticaefolius Poir. (Mora) y Sambucus canadensis L. (Saúco) como alternativas naturales de consumo de los colorantes artificiales rojo N° 40, ROJO N° 3 Y ROJO N° 2, en bebidas en el rango de pH: 3, 4 y 5.* Tesis de pregrado, Facultad de ciencias químicas y farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

19. **García, M. (1993).** *Biotecnología Alimentaria*. Editorial Limusa. 1era. Edición. México.
20. **Garzón, G. (2008).** *Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos*. (en línea). Bogota, Colombia. Universidad Nacional de Colombia.
21. **Ghiselli A.; Nardini M.; Baldi A.; Scaccini C. (1998).** *Antioxidant Activity of Different Phenolic Fractions Separated From an Italian Red Wine*. J Agric Food Chem.
22. **Giusti, M. y Worlsted, R., (2001).** *Characterization and measurement with UVvisible spectroscopy*, Current protocols in food analytical chemistry, John Wiley & Sons, Inc., pp. 1-13.
23. **Gutiérrez, Humberto y De la vara R., (2008).** *Análisis y diseño de experimentos*. 2da ed. México, Ed. McGraw –Hill interamericana editores S.A, 545p.
24. **Hoshino, T. et al. (1980).** *The stabilizing effect of the acyl group, on the co-pigmentation of acylated anthocyanins with c-glucosylflavones*. Phytochemistry. (19). England.
25. **Juli, et al., (2011).** *Antocianinas, polifenoles totales y capacidad antioxidante en dos clones de papa nativa del genero Solanum de pulpa azul y roja*. Tesis de pregrado, Facultad de ingeniería agroindustrial, carrera profesional de ingeniería agroindustrial UNSAAC, Perú.
26. **Kuklindki, C. (2000).** *Farmacognosia, Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. Ediciones Omega S.A. 2da. Edición. España.
27. **Leyva, D. (2009).** *Determinación de antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante en licores y fruto de mora*. Tesis de pregrado, Facultad de ingeniería de alimentos, Universidad Tecnológico de Mixteca, México.
28. **Lfevre M.; Lee B.; Byun D.; Kim, (2006).** *Anthocyanins inhibit lipogenesis of 3T3-L1 preadipocytes*. IFT presentation number: 003.
29. **Lock Sing de Ugaz, Olga, (1997).** *Colorantes Naturales*, Fondo Editorial. Perú.
30. **López, R. (2007).** *Perfil Cromatográfico de las antocianinas presentes en algunos frutos colombianos*. Pereira, Colombia. . UTP. ISSN 0122-1701 415. pp. 275-276.

31. **Martínez, et al., (2011).** *Estabilidad de Antocianinas en Jugo y Concentrado de Agraz (Vaccinium meridionale Sw.).* Revista FNA Medellín, pp. 6015-6022.
32. **Montgomery, D. (2004).** *Diseño y análisis de experimentos.* Mexico: Ediciones Luminosas.
33. **Noriega, et al., (2011).** *Extracción, pruebas de estabilidad y análisis químico preliminar de la fracción colorante obtenido a partir del exocarpo del fruto de Renealmia Alpina.* Scientific paper, pp. 13-20.
34. **Pastrana, et al., (2009).** *Identificación y cuantificación de antocianinas en uvas muscadinas por cromatografía líquida y espectrometría de masas, pp. 1-17.*
35. **Peguero, F. (2007).** *Perfil de antocianinas de tres variedades de frijol rojo (Phaseolus vulgarisL.) cultivadas en Honduras.* Tesis de pregrado, carrera de agroindustria alimentaria, Universidad de Honduras, Honduras.
36. **Pérez, S. y Valdivieso, C., (2007).** *Colección y caracterización morfológica In situ del mortiño (Vaccinium floribundum Kunth) en la sierra norte de Ecuador,* Tesis Previa a la Obtención del título de Ingeniero Agrónomo, IASA – ESPE, Quito, Ecuador, pp. 21, 32.
37. **Poo, S. (2005).** *Concentración de Antocianinas en Jugo de Cranberries (Vaccinium macrocarpon Ait.) mediante Nanofiltración.* Valdivia, Chile. Universidad Austral de Chile.
38. **Pszczola, D. (1998).** *Natural Colors: Pigments of imagination. Food Technology.* 52 (6). EE.UU.
39. **Rebolledo, F. (2007).** *Determinación del Potencial de Coloración en Alimentos de un Concentrado de Jugo de Cranberry (Vaccinium macrocarpon) Obtenido por Nanofiltración.* Valdivia, Chile. Universidad Austral de Chile.
40. **Reynaga, A. (2003).** *Tasas de deforestación y uso de la diversidad florística del bosque de kankarhuay de Pacucha.* Tesis de pregrado, Facultad de ciencias biológicas, carrera profesional de biología, UNSAAC, Perú.

41. **Rodríguez, S. (2008).** *Identificación y cuantificación de colorantes artificiales en refrescos en polvo elaborados y/o distribuidos en Guatemala.* Tesis de pregrado, Facultad de ciencias químicas y farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
42. **Roldan, S. (2012).** *Caracterización molecular, funcional y estudio del comportamiento post cosecha del mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) de la comunidad de Quinticusig del Cantón Sigchos de la provincia de Cotopaxi.* Tesis de pregrado, Facultad de ingeniería química y agroindustrial, carrera profesional de ingeniería agroindustrial, Escuela Politécnica Nacional, Ecuador.
43. **Santacruz, L. (2011).** *Análisis químico de antocianinas en frutos silvestres Colombianos.* Tesis de postgrado, Facultad de ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Colombia.
44. **Strack y Wray, (1989).** *Anthocyanins in: methods in plant biochemistry.* Vol. 1. Plant phenolics. Dey, P. M., and J. B. Harborne (eds). Academic Press. London. pp. 325-356.
45. **Teves, et al., (2011).** Estudio comparativo de la actividad antioxidante in vitro de los extractos antocianicos y caracterización de las antocianidinas en los frutos de las especies vegetales *Prunus serótina* (Capuli), *Muehlenbeckia volcánica* (Benth.) Endl. (Mullak'a), *Monnina salcifolia* R. & P. (Aceitunilla). Tesis de pregrado. Facultad de ciencias químicas, físicas, matemáticas, farmacia e informática, carrera profesional de farmacia y bioquímica UNSAAC, Perú.
46. **Turkey, N. et al. (2004).** *Effect of storage temperature on the stability of anthocyanins of a fermented black carrot (*Daucus carota* var. L.) Beverage: shalgam. (52).* EE.UU.
47. **Valle, et al., (2011).** *Evaluación de la Estabilidad de Antocianinas durante el Almacenamiento de Zanahoria Púrpura (*Daucus carota*).* Revista eciperú, pp. 113-117.
48. **Vélez, et al., (2008).** *Cuantificación de antocianinas en el maíz morado (*Zea Mays* L.), tratados con ultrasonido.* Tesis de pregrado, Facultad de ingeniería en industrias alimentarias, Universidad Nacional de la Selva Tingo María, Perú.

ANEXOS

ANEXO 01

CERTIFICADO DE DETERMINACIÓN TAXONÓMICA CUATRO MUESTRAS VEGETALES HERBORIZADAS Y MONTADAS.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

- | | | |
|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| • APARTADO POSTAL
N° 921 - Cusco - Perú | • CIUDAD UNIVERSITARIA
Av. De la Cultura N° 733 - Teléfonos: 228661 - 222512 - 232370 - 232375 - 232226 | • MUSEO INKA
Cuesta del Almirante N° 103 - Teléfono: 237380 |
| • FAX: 238156 - 238173 - 222512 | • CENTRAL TELEFÓNICA: 232398 - 252210
243835 - 243836 - 243837 - 243838 | • CENTRO AGRONÓMICO K'AYRA
San Jerónimo s/n Cusco - Teléfonos: 277145 - 277246 |
| • RECTORADO
Calle Tigre N° 127
Teléfonos: 222271 - 224891 - 224181 - 254398 | • LOCAL CENTRAL
Plaza de Armas s/n
Teléfonos: 227571 - 225721 - 224015 | • COLEGIO "FORTUNATO L. HERRERA"
Av. De la Cultura N° 721
"Estadio Universitario" - Teléfono: 227192 |

QUE SUSCRIBE, PROFESOR INVESTIGADOR ASOCIADO AL HERBARIO VARGAS (CUZ)

CERTIFICA:

Que el Señor **Jimmy Aroni Huamán**, Bachiller en Ingeniería Agroindustrial de la Facultad de Ingeniería, de la Universidad Nacional José María Arguedas (UNAJMA) de Andahuaylas; ha solicitado a la Dirección del Herbario Vargas (CUZ), la determinación taxonómica de cuatro muestras vegetales herborizadas y montadas, la que al ser diagnosticada utilizando bibliografía especializada, corresponde a las especies, *Hesperomeles escalloniifolia*, *Vaccinium floribundum*, *Berberis commutata* y *Berberis humbertiana*, cuyas posiciones taxonómicas de acuerdo a Cronquist (1981), compatibilizada con el Grupo del Sistema Filogenético de las Angiospermas (Angiosperm Phylogeny Group, APG III (2009), es la siguiente:

División	Magnoliophyta (=Angiospermas)
Clase	Magnoliopsida = Tricolpados (Eudicotiledóneas).
Subclase	Rosidae
Super orden	Rosanae
Orden	Rosales
Familia	Rosaceae
Género	<i>Hesperomeles</i>
Especie	<i>Hesperomeles escalloniifolia</i> (Schltld.) C.K. Schneid.

Sinonimias: *Crataegus escalloniifolia* Schltld.; *Hesperomeles pernettyoides* var. *microphylla* Wedd.; *Osteomeles escalloniifolia* (Schltld.) Decne.

Nombres comunes: "Millucapa", "Ñut'u mayu manzana", "Capachu".

División	Magnoliophyta (=Angiospermas)
Clase	Magnoliopsida = Tricolpados (Eudicotiledóneas).
Subclase	Asteridae
Super orden	Asteranae
Orden	Ericales
Familia	Ericaceae
Género	<i>Vaccinium</i>
Especie	<i>Vaccinium floribundum</i> Kunth

Sinonimias: *Vaccinium thymifolium* Klotzsch; *V. tatei* Rusby; *V. ramosissimum* Dunal; *V. polystachyum* Benth; *V. mortinia* Benth; *V. marginatum* Dunal; *V. floribundum* var. *tatei* (Rusby) Sleuner.

Nombres comunes: "Macha macha", "Alqo machamacha", "Congama", "Alaybili".

División Magnoliophyta (=Angiospermas)
Clase Magnoliopsida = Tricolpados (Eudicotiledóneas).
Subclase Magnoliidae
Super orden Ranunculanae
Orden Ranunculales
Familia Berberidaceae
Género *Berberis*
Especie ***Berberis cummutata*** Eichler

Sinonimias: *Berberis divaricata* Rusby, *Berberis trollii* Diels

Nombres comunes: "T'ancar ch'eqche", "Queshua ch'eqche", "Huancachu", "Airampo".

División Magnoliophyta (=Angiospermas)
Clase Magnoliopsida = Tricolpados (Eudicotiledóneas).
Subclase Magnoliidae
Super orden Ranunculanae
Orden Ranunculales
Familia Berberidaceae
Género *Berberis*
Especie ***Berberis humbertiana*** J.F. Macbr.

Sinonimias: No tiene.

Nombres comunes: "Cjata cheqche", "Teqte", "Cheqche"

Se expide esta certificación para la ejecución de tesis profesional.

Cusco, 18 setiembre del 2013.



M. Sc. B. Igo. Alfredo Cuyayachi Herrera
Prof. Investigador Asociado al Herbario Vargas (CURE)

ANEXO 02

CONSTANCIA DE ANÁLISIS DE LA IDENTIFICACIÓN DE ANTOCIANIDINAS POR CROMATOGRFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (HPLC).



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, FÍSICAS Y MATEMÁTICAS
LABORATORIO DE CROMATOGRFÍA – Pabellón de Control de Calidad
AV. De la Cultura 733 CUSCO –PERÚ Contacto 973868855

CONSTANCIA DE ANALISIS

El que suscribe, Responsable del Laboratorio de Cromatografía de la Facultad De Ciencias Químicas, Físicas, Matemáticas, Farmacia e Informática de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, deja Constancia.

Que el Bach. Jimmy ARONI HUAMAN, de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional José María Arguedas - Andahuaylas, ha presentado al Laboratorio de Cromatografía cuatro muestras de frutos de las siguientes especies vegetales *Hesperomeles escalloniifolia* Schldtl (CAPACHU), *Berberis cummutata* Eichler (HUANCACHU), *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (CHEQCHE) Y *Vaccinium floribundum* Kunth (ALAYBILÍ) que forman parte del proyecto de tesis titulado “EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DE ANTOCIANINAS PRESENTES EN LOS FRUTOS DE *Hesperomeles escalloniifolia* Schldtl (CAPACHU), *Berberis cummutata* Eichler (HUANCACHU), *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (CHEQCHE) Y *Vaccinium floribundum* Kunth (ALAYBILÍ) FRENTE AL pH Y TEMPERATURA” para la identificación cromatografica de antocianidinas. Dicho material ha sido caracterizado utilizando el Cromatógrafo Liquido de alta resolución Agilent 1200 La identificación se basó en la comparación de las señales del espectro de UV-Vis de las antocianidinas de cada componente con los espectros UV-Vis de las antocianidinas de Uva y la Fresa

Se expide la siguiente constancia a solicitud de las interesadas para los fines que vieran por conveniente.

Cusco, 11 de Octubre del 2013.

Qco. Jorge Choquenaira Parí
Analista del Laboratorio de Cromatografía y
Espectrometría – UNSAAC.

ANEXO 03
REPORTE DEL HPLC DEL ANÁLISIS DE *Hesperomeles escalloniifolia* Schlttdl
(CAPACHU).

ANEXO 04

REPORTE DEL HPLC DEL ANÁLISIS DE *Berberis cummutata* Eichler (HUANCACHU).

ANEXO 05

REPORTE DEL HPLC DEL ANÁLISIS DE *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (CHEQCHE).

ANEXO 06

REPORTE DEL HPLC DEL ANÁLISIS DE *Vaccinium floribundum* Kunth (ALAYBILÍ).

ANEXO 07

FOTOS DE LA ESPECIE *Hesperomeles escalloniifolia* Schlttdl (CAPACHU).



FOTO 01: HOJAS DE CAPACHU



FOTO 03: TALLOS DE CAPACHU



FOTO 03: FRUTO DE CAPACHU



FOTO 04: GEOREFENCIACIÓN DEL LUGAR



FOTO 05: RAÍZ DE CAPACHU



FOTO 06: PERIODO DE FLORACIÓN DE CAPACHU

ANEXO 08

FOTOS DE LA ESPECIE *Berberis cummutata* Eichler (HUANCACHU)



FOTO 01: PLANTA DE HUANCACHU



FOTO 02: HOJAS Y TALLOS DE HUANCACHU



FOTO 03: FLOR DE HUANCACHU



FOTO 04: FRUTOS DE HUANCACHU



FOTO 05: FRUTOS DE HUANCACHU



FOTO 06: GEOREFERENCIACIÓN DEL LUGAR

ANEXO 09

FOTOS DE LA ESPECIE *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (CHEQCHE)



FOTO 01: PERIODO DE FLORACION DE CHEQCHE



FOTO 02: FLOR, HOJAS Y TALLOS DE CHEQCHE



FOTO 03: PLANTA DE CHEQCHE



FOTO 04: PLANTA COMPLETA DE CHEQCHE



FOTO 05: FRUTOS DE CHEQCHE



FOTO 06: GEOREFENCIACION DEL LUGAR

ANEXO 10

FOTOS DE LA ESPECIE *Vaccinium floribundum* Kunth (ALAYBILÍ).



FOTO 01: PLANTA DE ALAYBILI



FOTO 02: FLOR, HOJAS Y TALLOS DE ALAYBILI



FOTO 03: ALAYBILI EN SU HÁBITAT



FOTO 04: FRUTOS DE ALAYBILI



FOTO 05: FRUTOS DE ALAYBILI



FOTO 06: HOJAS Y TALLO DE ALAYBILI

ANEXO 11

FOTOS DE LA REALIZACIÓN DE LA PARTE EXPERIMENTAL DE LA IDENTIFICACIÓN CON EL HPLC.



FOTO 01: HPLC Y LAS MUESTRAS



FOTO 02: MUESTRAS TRITURADOS



FOTO 03: MACERACIÓN DE LA MUESTRA



FOTO 04: CENTRIFUGACIÓN DE LA MUESTRA

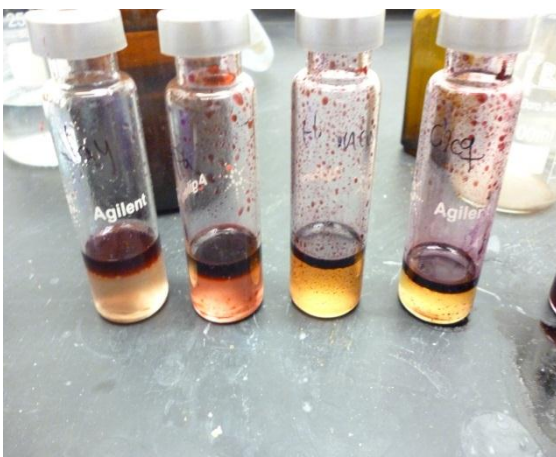


FOTO 05: SEPARACION LÍQUIDO-LÍQUIDO DE LA MUESTRA

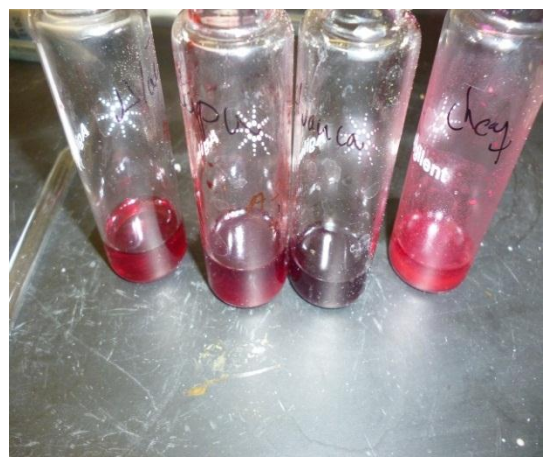


FOTO 06: MUESTRAS HIDROLIZADOS



FOTO 07: ANTOCIANIDINAS DECANTADOS

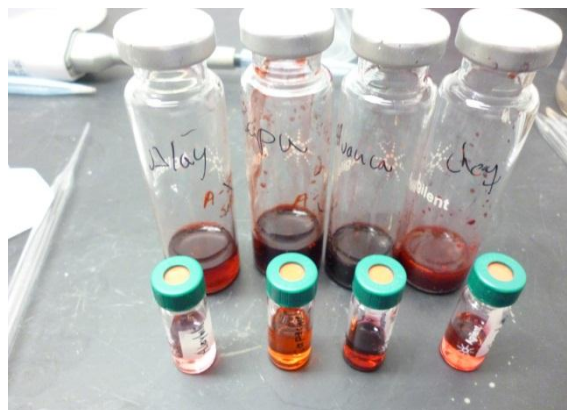


FOTO 08: MUESTRAS DE ANTOCIANIDINAS



FOTO 09: C18 CON MUESTRAS



FOTO 10: PURIFICACIÓN DE ANTOCIANIDINAS

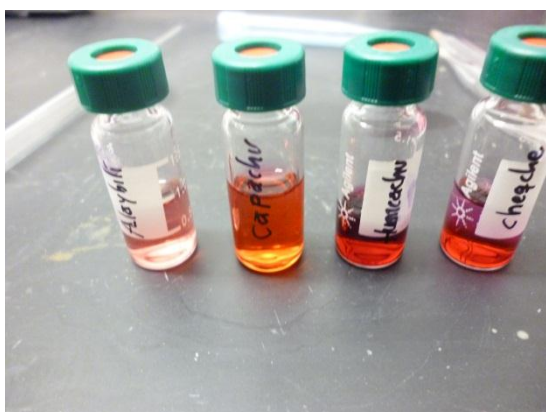


FOTO 11: VIALES CON MUESTRAS LISTO PARA HPLC



FOTO 12: COLUMNA INSTALADO EN EL HPLC



FOTO 13: COLUMNA



FOTO 14: VIALES Y BRAZO ROBÓTICO DE HPLC

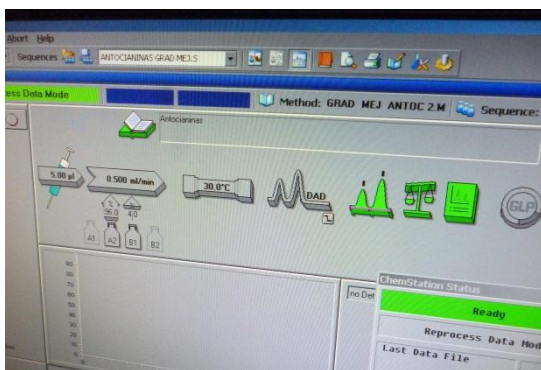


FOTO 15: SOFTWARE DEL HPLC



FOTO 16: HPLC EN INICIO DEL ANALISIS

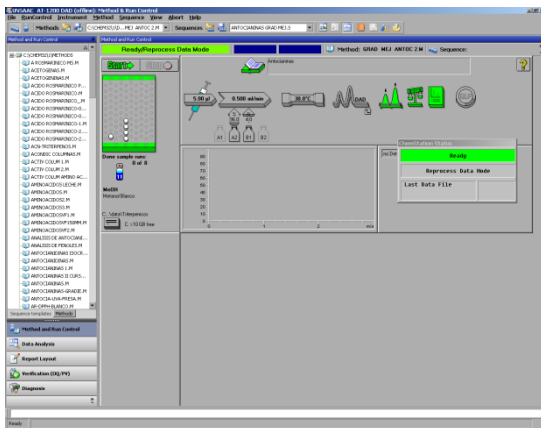


FOTO 17: CONFIGURACIÓN DEL SOFTWARE DEL HPLC

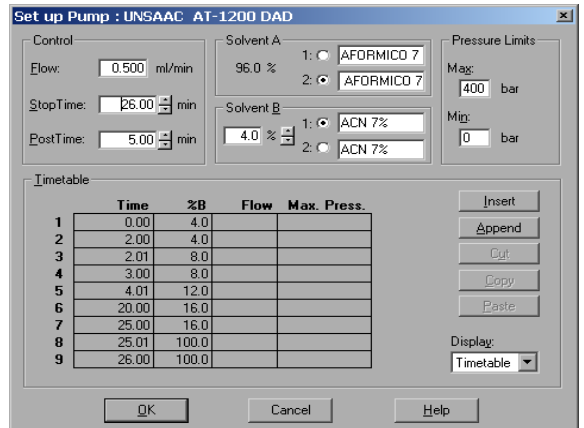


FOTO 18: CONFIGURACIÓN DEL SOFTWARE DEL HPLC

S

ANEXO 12

FOTOS DE LA REALIZACIÓN DE LA PARTE EXPERIMENTAL DE CUANTIFICACIÓN Y EVALUACIÓN DE LAS ANTOCIANINAS PRESENTES EN LOS FRUTOS.



FOTO 01: MUESTRAS TRITURADOS



FOTO 02: ADICIÓN AL SOLVENTE EXTRACTOR



FOTO 03: MUESTRA PARA MACERACIÓN



FOTO 04: MACERACIÓN DE LA MUESTRA



FOTO 05: FILTRADO



FOTO 06: DILUCIÓN DE LAS MUESTRAS



FOTO 07: ACONDICIONAMIENTO DEL pH



FOTO 08: MUESTRAS ACONDICIONADAS



FOTO 09: MUESTRAS POR DIFERENTES pH



FOTO 10: ESPECTOFOTOMETRO



FOTO 11: DILUCIÓN DE MUESTRAS PARA CUANTIFICACIÓN



FOTO 12: MUESTRAS A DIFERENTES BUFFERS

ANEXO 13

LECTURAS DE LAS ABSORBANCIAS POR TRIPLICADO DEL *Hesperomeles escalloniifolia* Schlttdl (CAPACHU) DURANTE LA EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DE LAS ANTOCIANINAS.

DIAS	TRATAMIENTOS PARA <i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schlttdl (CAPACHU)																																			
	T=20°C									T=30°C									T=40°C																	
	pH=3			pH=4			pH=5			pH=3			pH=4			pH=5			pH=3			pH=4			pH=5											
	T1 (20°C,3pH)			T2 (20°C,4pH)			T3 (20°C,5pH)			T4 (30°C,3pH)			T5 (30°C,4pH)			T6 (30°C,5pH)			T7 (40°C,3pH)			T8 (40°C,4pH)			T9 (40°C,5pH)											
	Prueba1	Prueba2	Prueba3	PROMEDIO	Prueba1	Prueba2	Prueba3	PROMEDIO	Prueba1	Prueba2	Prueba3	PROMEDIO	Prueba1	Prueba2	Prueba3	PROMEDIO	Prueba1	Prueba2	Prueba3	PROMEDIO	Prueba1	Prueba2	Prueba3	PROMEDIO	Prueba1	Prueba2	Prueba3	PROMEDIO	Prueba1	Prueba2	Prueba3	PROMEDIO				
1	0.717	0.740	0.730	0.729	0.730	0.731	0.732	0.731	0.708	0.705	0.708	0.707	0.721	0.722	0.722	0.722	0.667	0.663	0.666	0.665	0.679	0.677	0.675	0.677	0.721	0.724	0.723	0.723	0.625	0.624	0.627	0.625	0.652	0.651	0.655	0.653
3	0.716	0.717	0.718	0.717	0.727	0.724	0.723	0.725	0.681	0.682	0.683	0.682	0.705	0.708	0.707	0.707	0.645	0.643	0.646	0.645	0.643	0.641	0.644	0.643	0.716	0.719	0.718	0.718	0.584	0.586	0.585	0.585	0.626	0.625	0.627	0.626
5	0.715	0.714	0.714	0.714	0.711	0.715	0.714	0.713	0.665	0.664	0.666	0.665	0.682	0.684	0.683	0.683	0.633	0.632	0.635	0.633	0.615	0.613	0.616	0.615	0.711	0.713	0.714	0.713	0.534	0.533	0.535	0.534	0.603	0.607	0.605	0.605
7	0.721	0.713	0.713	0.716	0.692	0.697	0.695	0.695	0.652	0.655	0.653	0.653	0.668	0.666	0.664	0.666	0.584	0.582	0.585	0.584	0.603	0.605	0.603	0.604	0.705	0.702	0.703	0.703	0.451	0.455	0.456	0.454	0.598	0.595	0.597	0.597
9	0.712	0.712	0.713	0.712	0.683	0.681	0.684	0.683	0.637	0.638	0.636	0.637	0.652	0.654	0.653	0.653	0.561	0.562	0.564	0.562	0.589	0.586	0.588	0.588	0.703	0.704	0.705	0.704	0.408	0.407	0.404	0.406	0.581	0.582	0.584	0.582
11	0.708	0.708	0.707	0.708	0.675	0.674	0.673	0.674	0.624	0.625	0.626	0.625	0.645	0.646	0.647	0.646	0.493	0.494	0.496	0.494	0.575	0.576	0.578	0.576	0.702	0.703	0.701	0.702	0.363	0.366	0.365	0.365	0.575	0.571	0.573	0.573
13	0.705	0.706	0.704	0.705	0.664	0.663	0.665	0.664	0.611	0.615	0.613	0.613	0.641	0.639	0.642	0.641	0.427	0.425	0.425	0.426	0.562	0.563	0.565	0.563	0.698	0.699	0.698	0.698	0.322	0.325	0.327	0.325	0.564	0.563	0.565	0.564
15	0.704	0.702	0.704	0.703	0.652	0.651	0.652	0.652	0.590	0.591	0.593	0.591	0.638	0.636	0.635	0.636	0.395	0.393	0.396	0.395	0.556	0.557	0.558	0.557	0.693	0.695	0.696	0.695	0.306	0.305	0.303	0.305	0.556	0.557	0.555	0.556
17	0.703	0.701	0.702	0.702	0.642	0.644	0.645	0.644	0.587	0.584	0.586	0.586	0.634	0.636	0.637	0.636	0.379	0.382	0.381	0.381	0.548	0.545	0.546	0.546	0.685	0.686	0.687	0.686	0.281	0.284	0.283	0.283	0.547	0.546	0.548	0.547
19	0.702	0.702	0.701	0.702	0.635	0.634	0.637	0.635	0.573	0.574	0.577	0.575	0.635	0.638	0.636	0.636	0.372	0.374	0.374	0.373	0.541	0.545	0.541	0.542	0.673	0.672	0.676	0.674	0.275	0.277	0.278	0.277	0.541	0.543	0.544	0.543
21	0.701	0.700	0.701	0.701	0.628	0.629	0.631	0.629	0.567	0.569	0.568	0.568	0.633	0.631	0.634	0.633	0.358	0.357	0.355	0.357	0.533	0.538	0.537	0.536	0.662	0.665	0.661	0.663	0.253	0.251	0.256	0.253	0.537	0.536	0.538	0.537
23	0.700	0.700	0.701	0.700	0.621	0.625	0.623	0.623	0.564	0.567	0.565	0.565	0.631	0.634	0.635	0.633	0.341	0.342	0.344	0.342	0.532	0.534	0.536	0.534	0.659	0.656	0.657	0.657	0.245	0.247	0.246	0.246	0.532	0.534	0.535	0.534
25	0.700	0.701	0.700	0.700	0.618	0.617	0.619	0.618	0.545	0.543	0.544	0.544	0.628	0.629	0.631	0.629	0.334	0.335	0.336	0.335	0.528	0.526	0.527	0.527	0.651	0.652	0.654	0.652	0.227	0.228	0.231	0.229	0.532	0.531	0.535	0.533
27	0.699	0.698	0.697	0.698	0.613	0.615	0.617	0.615	0.535	0.538	0.537	0.537	0.627	0.625	0.628	0.627	0.326	0.328	0.327	0.327	0.526	0.527	0.529	0.527	0.647	0.644	0.645	0.645	0.211	0.215	0.214	0.213	0.525	0.533	0.529	0.529
29	0.697	0.698	0.697	0.697	0.603	0.605	0.606	0.605	0.527	0.529	0.526	0.527	0.622	0.625	0.624	0.624	0.319	0.317	0.318	0.318	0.524	0.521	0.525	0.523	0.645	0.645	0.646	0.645	0.193	0.194	0.197	0.195	0.527	0.528	0.525	0.527
30	0.695	0.696	0.697	0.696	0.597	0.599	0.599	0.598	0.525	0.525	0.524	0.525	0.623	0.623	0.626	0.624	0.316	0.314	0.317	0.316	0.523	0.524	0.526	0.524	0.643	0.642	0.645	0.643	0.171	0.172	0.173	0.172	0.524	0.526	0.528	0.526

ANEXO 14

LECTURAS DE LAS ABSORBANCIAS POR TRIPLICADO DEL *Berberis cummutata* Eichler (HUANCACHU) DURANTE LA EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DE LAS ANTOCIANINAS.

TRATAMIENTOS PARA <i>Berberis cummutata</i> Eichler (HUANCACHU)																																				
DIAS	T=20°C												T=30°C												T=40°C											
	pH=3				pH=4				pH=5				pH=3				pH=4				pH=5				pH=3			pH=4			pH=5					
	T1 (20°C,3pH)			T2 (20°C,4pH)			T3 (20°C,5pH)			T4 (30°C,3pH)			T5 (30°C,4pH)			T6 (30°C,5pH)			T7 (40°C,3pH)			T8 (40°C,4pH)			T9 (40°C,5pH)											
	Prueba1	Prueba2	Prueba3	PROMEDIO	Prueba1	Prueba2	Prueba3	PROMEDIO	Prueba1	Prueba2	Prueba3	PROMEDIO	Prueba1	Prueba2	Prueba3	PROMEDIO	Prueba1	Prueba2	Prueba3	PROMEDIO	Prueba1	Prueba2	Prueba3	PROMEDIO	Prueba1	Prueba2	Prueba3	PROMEDIO	Prueba1	Prueba2	Prueba3	PROMEDIO	Prueba1	Prueba2	Prueba3	PROMEDIO
1	0.337	0.334	0.335	0.335	0.486	0.484	0.485	0.485	0.885	0.887	0.886	0.886	1.276	1.277	1.278	1.277	0.454	0.455	0.453	0.454	0.868	0.869	0.867	0.868	1.224	1.221	1.222	1.222	0.418	0.421	0.419	0.419	0.853	0.856	0.854	0.854
3	0.314	0.317	0.316	0.316	0.463	0.465	0.461	0.463	0.875	0.874	0.878	0.876	1.225	1.226	1.229	1.227	0.386	0.387	0.389	0.387	0.856	0.855	0.857	0.856	1.105	1.101	1.102	1.103	0.396	0.394	0.398	0.396	0.841	0.845	0.842	0.843
5	0.282	0.281	0.284	0.282	0.458	0.456	0.457	0.457	0.865	0.869	0.867	0.867	1.157	1.155	1.158	1.157	0.355	0.354	0.352	0.354	0.834	0.837	0.835	0.835	0.955	0.957	0.956	0.956	0.375	0.379	0.378	0.377	0.821	0.824	0.823	0.823
7	0.253	0.254	0.257	0.255	0.452	0.454	0.456	0.454	0.864	0.861	0.862	0.862	1.107	1.105	1.109	1.107	0.326	0.327	0.329	0.327	0.823	0.824	0.821	0.823	0.834	0.836	0.835	0.835	0.326	0.324	0.329	0.326	0.798	0.795	0.799	0.797
9	0.214	0.213	0.211	0.213	0.416	0.415	0.412	0.414	0.858	0.857	0.859	0.858	0.996	0.995	0.993	0.995	0.314	0.312	0.313	0.313	0.817	0.814	0.811	0.814	0.743	0.749	0.747	0.746	0.255	0.253	0.251	0.253	0.773	0.772	0.774	0.773
11	0.192	0.192	0.192	0.192	0.385	0.386	0.387	0.386	0.854	0.851	0.853	0.853	0.982	0.984	0.983	0.983	0.295	0.294	0.293	0.294	0.799	0.796	0.798	0.798	0.645	0.647	0.643	0.645	0.236	0.233	0.235	0.235	0.766	0.765	0.763	0.765
13	0.175	0.174	0.171	0.173	0.343	0.344	0.346	0.344	0.849	0.847	0.848	0.848	0.952	0.953	0.951	0.952	0.279	0.276	0.278	0.278	0.793	0.795	0.791	0.793	0.582	0.584	0.581	0.582	0.214	0.212	0.211	0.212	0.757	0.758	0.759	0.758
15	0.153	0.152	0.154	0.153	0.334	0.331	0.336	0.334	0.846	0.845	0.844	0.845	0.935	0.934	0.933	0.934	0.241	0.242	0.244	0.242	0.785	0.787	0.784	0.785	0.554	0.555	0.553	0.554	0.155	0.159	0.157	0.157	0.758	0.756	0.757	0.757
17	0.146	0.148	0.145	0.146	0.332	0.334	0.331	0.332	0.842	0.843	0.841	0.842	0.882	0.884	0.883	0.883	0.235	0.236	0.234	0.235	0.776	0.772	0.774	0.774	0.504	0.505	0.506	0.505	0.126	0.129	0.127	0.127	0.744	0.745	0.746	0.745
19	0.143	0.144	0.145	0.144	0.331	0.332	0.330	0.331	0.837	0.839	0.838	0.838	0.841	0.842	0.843	0.842	0.223	0.222	0.221	0.222	0.763	0.765	0.764	0.764	0.445	0.448	0.447	0.447	0.114	0.113	0.112	0.113	0.739	0.737	0.738	0.738
21	0.136	0.139	0.137	0.137	0.326	0.327	0.329	0.327	0.832	0.834	0.835	0.834	0.819	0.816	0.818	0.818	0.208	0.203	0.207	0.206	0.752	0.753	0.751	0.752	0.396	0.398	0.397	0.397	0.095	0.096	0.093	0.095	0.734	0.733	0.731	0.733
23	0.136	0.135	0.138	0.136	0.326	0.328	0.327	0.327	0.834	0.831	0.833	0.833	0.751	0.753	0.752	0.752	0.193	0.195	0.199	0.196	0.746	0.747	0.745	0.746	0.347	0.344	0.345	0.345	0.073	0.076	0.075	0.075	0.725	0.728	0.726	0.726
25	0.123	0.126	0.125	0.125	0.328	0.327	0.327	0.327	0.832	0.831	0.830	0.831	0.705	0.708	0.711	0.708	0.167	0.168	0.169	0.168	0.737	0.738	0.735	0.737	0.257	0.259	0.258	0.258	0.055	0.058	0.056	0.056	0.723	0.721	0.722	0.722
27	0.121	0.124	0.123	0.123	0.327	0.326	0.328	0.327	0.829	0.828	0.830	0.829	0.659	0.658	0.656	0.658	0.161	0.162	0.164	0.162	0.723	0.724	0.721	0.723	0.106	0.104	0.103	0.104	0.047	0.044	0.046	0.046	0.718	0.719	0.721	0.719
29	0.116	0.118	0.117	0.117	0.325	0.328	0.326	0.326	0.824	0.826	0.825	0.825	0.626	0.629	0.627	0.627	0.158	0.156	0.157	0.157	0.694	0.699	0.697	0.697	0.019	0.017	0.016	0.017	0.036	0.039	0.038	0.038	0.711	0.713	0.709	0.711
30	0.113	0.115	0.114	0.114	0.323	0.326	0.328	0.326	0.821	0.823	0.822	0.822	0.615	0.617	0.614	0.615	0.151	0.154	0.152	0.152	0.662	0.663	0.665	0.663	0.008	0.006	0.009	0.008	0.025	0.027	0.029	0.027	0.705	0.702	0.701	0.703

ANEXO 15

LECTURAS DE LAS ABSORBANCIAS POR TRIPLICADO DEL *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (CHEQCHE) DURANTE LA EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DE LAS ANTOCIANINAS.

DIAS	TRATAMIENTOS PARA <i>Berberis humbertiana</i> J.F. Macbr (CHEQCHE)																																			
	T=20°C												T=30°C												T=40°C											
	pH=3				pH=4				pH=5				pH=3				pH=4				pH=5				pH=3			pH=4			pH=5					
	T1 (20°C,3pH)			T2 (20°C,4pH)			T3 (20°C,5pH)			T4 (30°C,3pH)			T5 (30°C,4pH)			T6 (30°C,5pH)			T7 (40°C,3pH)			T8 (40°C,4pH)			T9 (40°C,5pH)											
	Prueba1	Prueba2	Prueba3	PROMEDIO	Prueba1	Prueba2	Prueba3	PROMEDIO	Prueba1	Prueba2	Prueba3	PROMEDIO	Prueba1	Prueba2	Prueba3	PROMEDIO	Prueba1	Prueba2	Prueba3	PROMEDIO	Prueba1	Prueba2	Prueba3	PROMEDIO	Prueba1	Prueba2	Prueba3	PROMEDIO	Prueba1	Prueba2	Prueba3	PROMEDIO	Prueba1	Prueba2	Prueba3	PROMEDIO
1	0.773	0.775	0.774	0.774	0.764	0.765	0.763	0.764	0.664	0.669	0.668	0.667	0.774	0.773	0.775	0.774	0.703	0.704	0.705	0.704	0.634	0.636	0.638	0.636	0.777	0.779	0.776	0.777	0.695	0.691	0.692	0.693	0.635	0.636	0.633	0.635
3	0.771	0.774	0.773	0.773	0.722	0.725	0.724	0.724	0.637	0.636	0.638	0.637	0.761	0.764	0.762	0.762	0.661	0.664	0.662	0.662	0.611	0.614	0.612	0.612	0.772	0.774	0.776	0.774	0.613	0.615	0.612	0.613	0.614	0.615	0.612	0.614
5	0.772	0.770	0.771	0.771	0.657	0.655	0.659	0.657	0.626	0.625	0.628	0.626	0.755	0.754	0.753	0.754	0.597	0.599	0.598	0.598	0.587	0.586	0.589	0.587	0.769	0.766	0.765	0.767	0.552	0.556	0.554	0.554	0.596	0.599	0.597	0.597
7	0.770	0.771	0.770	0.770	0.561	0.562	0.564	0.562	0.622	0.625	0.623	0.623	0.743	0.742	0.741	0.742	0.543	0.544	0.545	0.544	0.563	0.564	0.565	0.564	0.764	0.768	0.767	0.766	0.464	0.468	0.467	0.466	0.555	0.556	0.554	0.555
9	0.768	0.767	0.769	0.768	0.524	0.525	0.522	0.524	0.599	0.595	0.598	0.597	0.743	0.745	0.744	0.744	0.487	0.486	0.489	0.487	0.514	0.515	0.512	0.514	0.762	0.764	0.766	0.764	0.386	0.387	0.389	0.387	0.516	0.513	0.512	0.514
11	0.767	0.766	0.768	0.767	0.512	0.514	0.515	0.514	0.565	0.563	0.562	0.563	0.746	0.745	0.747	0.746	0.436	0.439	0.438	0.438	0.496	0.497	0.498	0.497	0.764	0.762	0.766	0.764	0.358	0.354	0.356	0.356	0.499	0.497	0.498	0.498
13	0.764	0.766	0.765	0.765	0.491	0.494	0.492	0.492	0.531	0.537	0.534	0.534	0.743	0.740	0.741	0.741	0.365	0.369	0.368	0.367	0.567	0.568	0.565	0.567	0.762	0.763	0.761	0.762	0.316	0.314	0.312	0.314	0.456	0.453	0.454	0.454
15	0.763	0.765	0.764	0.764	0.487	0.486	0.485	0.486	0.522	0.524	0.521	0.522	0.738	0.737	0.735	0.737	0.326	0.327	0.329	0.327	0.453	0.454	0.451	0.453	0.758	0.756	0.759	0.758	0.279	0.278	0.277	0.278	0.431	0.435	0.433	0.433
17	0.763	0.764	0.762	0.763	0.473	0.472	0.475	0.473	0.518	0.519	0.516	0.518	0.734	0.733	0.731	0.733	0.319	0.323	0.316	0.319	0.446	0.449	0.448	0.448	0.743	0.747	0.745	0.745	0.213	0.217	0.215	0.215	0.426	0.429	0.427	0.427
19	0.761	0.763	0.762	0.762	0.461	0.465	0.462	0.463	0.517	0.514	0.515	0.515	0.726	0.727	0.729	0.727	0.309	0.314	0.312	0.312	0.441	0.444	0.442	0.442	0.733	0.737	0.735	0.735	0.196	0.198	0.199	0.198	0.415	0.414	0.413	0.414
21	0.760	0.763	0.761	0.761	0.456	0.459	0.458	0.458	0.508	0.509	0.511	0.509	0.723	0.725	0.724	0.724	0.295	0.298	0.296	0.296	0.439	0.437	0.435	0.437	0.722	0.726	0.724	0.724	0.165	0.164	0.162	0.164	0.406	0.410	0.409	0.408
23	0.761	0.762	0.760	0.761	0.456	0.451	0.454	0.454	0.503	0.504	0.501	0.503	0.720	0.724	0.721	0.722	0.278	0.279	0.275	0.277	0.428	0.426	0.431	0.428	0.716	0.714	0.712	0.714	0.156	0.158	0.154	0.156	0.395	0.398	0.397	0.397
25	0.758	0.759	0.758	0.758	0.434	0.439	0.437	0.437	0.498	0.496	0.499	0.498	0.717	0.719	0.718	0.718	0.271	0.273	0.275	0.273	0.424	0.423	0.422	0.423	0.684	0.687	0.689	0.687	0.146	0.142	0.144	0.144	0.374	0.371	0.373	0.373
27	0.757	0.756	0.758	0.757	0.446	0.449	0.442	0.446	0.498	0.496	0.497	0.497	0.714	0.718	0.715	0.716	0.267	0.266	0.264	0.266	0.418	0.416	0.419	0.418	0.678	0.675	0.679	0.677	0.138	0.137	0.135	0.137	0.369	0.368	0.367	0.368
29	0.756	0.755	0.757	0.756	0.439	0.438	0.435	0.437	0.488	0.485	0.487	0.487	0.711	0.714	0.716	0.714	0.256	0.252	0.255	0.254	0.414	0.417	0.415	0.415	0.674	0.675	0.677	0.675	0.125	0.122	0.121	0.123	0.356	0.353	0.354	0.354
30	0.753	0.755	0.754	0.754	0.432	0.431	0.434	0.432	0.483	0.485	0.488	0.485	0.702	0.701	0.703	0.702	0.242	0.241	0.240	0.241	0.413	0.414	0.412	0.413	0.673	0.671	0.674	0.673	0.106	0.103	0.102	0.104	0.347	0.345	0.344	0.345

ANEXO 16

LECTURAS DE LAS ABSORBANCIAS POR TRIPLICADO DEL *Vaccinium floribundum* Kunth (ALAYBILÍ) DURANTE LA EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DE LAS ANTOCIANINAS.

TRATAMIENTOS PARA <i>Vaccinium floribundum</i> Kunth (ALAYBILÍ)																																				
DIAS	T=20°C												T=30°C												T=40°C											
	pH=3				pH=4				pH=5				pH=3				pH=4				pH=5				pH=3			pH=4			pH=5					
	T1 (20°C,3pH)			PROMEDIO	T2 (20°C,4pH)			PROMEDIO	T3 (20°C,5pH)			PROMEDIO	T4 (30°C,3pH)			PROMEDIO	T5 (30°C,4pH)			PROMEDIO	T6 (30°C,5pH)			PROMEDIO	T7 (40°C,3pH)			PROMEDIO	T8 (40°C,4pH)			PROMEDIO	T9 (40°C,5pH)			PROMEDIO
	Prueba1	Prueba2	Prueba3		Prueba1	Prueba2	Prueba3		Prueba1	Prueba2	Prueba3		Prueba1	Prueba2	Prueba3		Prueba1	Prueba2	Prueba3		Prueba1	Prueba2	Prueba3		Prueba1	Prueba2	Prueba3		Prueba1	Prueba2	Prueba3		Prueba1	Prueba2	Prueba3	
1	0.804	0.806	0.805	0.805	0.704	0.707	0.706	0.706	0.394	0.396	0.393	0.394	0.977	0.976	0.978	0.977	0.678	0.676	0.679	0.678	0.376	0.379	0.378	0.378	0.843	0.841	0.845	0.843	0.695	0.691	0.692	0.693	0.365	0.369	0.368	0.367
3	0.755	0.756	0.754	0.755	0.685	0.687	0.684	0.685	0.383	0.385	0.384	0.384	0.805	0.807	0.801	0.804	0.664	0.661	0.662	0.662	0.371	0.376	0.372	0.373	0.754	0.757	0.751	0.754	0.647	0.649	0.648	0.648	0.364	0.365	0.362	0.364
5	0.635	0.632	0.637	0.635	0.679	0.674	0.677	0.677	0.375	0.376	0.373	0.375	0.654	0.656	0.658	0.656	0.645	0.647	0.643	0.645	0.368	0.364	0.369	0.367	0.671	0.675	0.673	0.673	0.625	0.629	0.626	0.627	0.356	0.353	0.354	0.354
7	0.574	0.577	0.578	0.576	0.655	0.658	0.656	0.656	0.368	0.369	0.367	0.368	0.573	0.572	0.571	0.572	0.627	0.625	0.623	0.625	0.362	0.367	0.365	0.365	0.542	0.548	0.545	0.545	0.595	0.598	0.597	0.597	0.342	0.347	0.344	0.344
9	0.524	0.525	0.523	0.524	0.627	0.629	0.628	0.628	0.364	0.363	0.361	0.363	0.502	0.504	0.501	0.502	0.602	0.607	0.604	0.604	0.361	0.367	0.364	0.364	0.451	0.454	0.452	0.452	0.576	0.579	0.578	0.578	0.334	0.337	0.339	0.337
11	0.476	0.479	0.478	0.478	0.614	0.615	0.612	0.614	0.358	0.357	0.356	0.357	0.456	0.458	0.457	0.457	0.584	0.586	0.587	0.586	0.363	0.361	0.364	0.363	0.337	0.335	0.339	0.337	0.556	0.559	0.558	0.558	0.333	0.338	0.335	0.335
13	0.374	0.377	0.375	0.375	0.589	0.585	0.587	0.587	0.345	0.346	0.347	0.346	0.403	0.407	0.405	0.405	0.542	0.541	0.545	0.543	0.362	0.363	0.361	0.362	0.253	0.256	0.254	0.254	0.541	0.545	0.543	0.543	0.324	0.328	0.326	0.326
15	0.310	0.319	0.318	0.316	0.563	0.565	0.567	0.565	0.342	0.343	0.344	0.343	0.378	0.377	0.375	0.377	0.512	0.519	0.517	0.516	0.359	0.355	0.358	0.357	0.148	0.146	0.149	0.148	0.534	0.531	0.532	0.532	0.323	0.325	0.324	0.324
17	0.312	0.313	0.311	0.312	0.558	0.556	0.555	0.556	0.336	0.338	0.339	0.338	0.334	0.336	0.335	0.335	0.514	0.511	0.512	0.512	0.355	0.348	0.352	0.352	0.143	0.145	0.142	0.143	0.527	0.531	0.529	0.529	0.320	0.323	0.321	0.321
19	0.294	0.297	0.296	0.296	0.546	0.547	0.545	0.546	0.338	0.337	0.336	0.337	0.312	0.317	0.314	0.314	0.502	0.506	0.505	0.504	0.349	0.345	0.347	0.347	0.136	0.139	0.138	0.138	0.519	0.524	0.521	0.521	0.317	0.320	0.319	0.319
21	0.265	0.267	0.264	0.265	0.536	0.537	0.539	0.537	0.331	0.330	0.333	0.331	0.276	0.279	0.278	0.278	0.495	0.499	0.497	0.497	0.340	0.344	0.341	0.342	0.131	0.133	0.135	0.133	0.513	0.518	0.515	0.515	0.316	0.319	0.317	0.317
23	0.254	0.257	0.253	0.255	0.536	0.535	0.537	0.536	0.327	0.329	0.325	0.327	0.225	0.229	0.228	0.227	0.485	0.482	0.487	0.485	0.336	0.337	0.339	0.337	0.126	0.131	0.129	0.129	0.502	0.505	0.501	0.503	0.313	0.317	0.315	0.315
25	0.214	0.216	0.218	0.216	0.533	0.535	0.531	0.533	0.321	0.324	0.322	0.322	0.216	0.221	0.219	0.219	0.483	0.485	0.481	0.483	0.335	0.334	0.336	0.335	0.121	0.124	0.136	0.127	0.496	0.499	0.498	0.498	0.311	0.314	0.312	0.312
27	0.194	0.198	0.197	0.196	0.527	0.529	0.528	0.528	0.316	0.318	0.319	0.318	0.215	0.213	0.216	0.215	0.476	0.479	0.478	0.478	0.332	0.334	0.331	0.332	0.120	0.119	0.121	0.120	0.492	0.496	0.494	0.494	0.305	0.307	0.309	0.307
29	0.166	0.168	0.169	0.168	0.527	0.526	0.528	0.527	0.312	0.317	0.314	0.314	0.194	0.195	0.197	0.195	0.474	0.469	0.471	0.471	0.329	0.327	0.328	0.328	0.115	0.116	0.114	0.115	0.477	0.474	0.476	0.476	0.304	0.307	0.305	0.305
30	0.156	0.160	0.158	0.158	0.527	0.525	0.526	0.526	0.307	0.303	0.305	0.305	0.182	0.184	0.183	0.183	0.466	0.469	0.468	0.468	0.329	0.328	0.327	0.328	0.111	0.112	0.113	0.112	0.467	0.468	0.469	0.468	0.301	0.303	0.302	0.302

ANEXO 17

CÁLCULO DE ABSORBANCIAS POR TRIPLICADO A DIFERENTES LONGITUDES DE ONDA PARA LAS CUATRO MUESTRAS.

Muestra	pH 1.0				pH 4.5				Absorbancia de la muestra (A)
	A(520 nm)	Promedio	A(700 nm)	Promedio	A(520 nm)	Promedio	A(700 nm)	Promedio	
<i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltdl (CAPACHU)	0.577	0.538	0.001	0.001	0.055	0.051	0.004	0.004	0.489
	0.543		0.001		0.046		0.003		
	0.493		0.001		0.053		0.004		
<i>Berberis cummutata</i> Eichler (HUANCACHU)	0.313	0.320	0.002	0.002	0.040	0.039	0.005	0.004	0.284
	0.326		0.001		0.038		0.004		
	0.321		0.002		0.039		0.004		
<i>Berberis humbertiana</i> J.F. Macbr (CHEQCHE)	0.634	0.633	0.003	0.002	0.084	0.083	0.002	0.002	0.549
	0.632		0.003		0.083		0.001		
	0.633		0.000		0.083		0.002		
<i>Vaccinium floribundum</i> Kunth (ALAYBILÍ)	0.111	0.111	0.001	0.001	0.016	0.016	0.003	0.003	0.096
	0.112		0.001		0.017		0.002		
	0.111		0.002		0.016		0.003		

ANEXO 18

CÁLCULO DEL CONTENIDO TOTAL DE ANTOCIANINAS DE LAS CUATRO MUESTRAS.

Muestra	A	MW (mg/mol)	DF	E (L/cm*mol)	L (cm)	V (L)	Wt (g)	Promedio	Contenido de Antocianinas (p/p) (mg/g)	Contenido de Antocianinas (mg/100g)
<i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltdl (CAPACHU)	0.489	449600	12.5	26900	1	0.05	0.5018	0.5021	10.1735536	2026.200678
							0.5024			
							0.5021			
<i>Berberis cummutata</i> Eichler (HUANCACHU)	0.284	449600	14	26900	1	0.05	0.5111	0.5111	6.500641236	1271.809294
							0.5112			
							0.5111			
<i>Berberis humbertiana</i> J.F. Macbr (CHEQCHE)	0.549	449600	14	26900	1	0.05	0.5277	0.5277	12.1711014	2306.297637
							0.5278			
							0.5277			
<i>Vaccinium floribundum</i> Kunth (ALAYBILÍ)	0.096	449600	12.5	26900	1	0.05	0.5604	0.5605	1.789055564	319.1702362
							0.5607			
							0.5605			

ANEXO 19

TIEMPOS DE RETENCIÓN Y % DE ÁREA DE LOS PICOS DEL CROMATOGRAMA DE *Hesperomeles escalloniifolia* Schldl (CAPACHU).

Signal 2: DAD1 B, Sig=520,4 Ref=off
Signal has been modified after loading from rawdata file!

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	7.129	BV	0.1358	409.37396	46.93074	16.3414
2	7.876	VB	0.1427	136.51996	14.65451	5.4496
3	8.608	BV	0.1974	396.30521	30.54827	15.8197
4	9.382	VV	0.1926	392.47934	30.80763	15.6670
5	10.043	VB	0.2523	92.89679	5.57766	3.7083
6	11.193	BV	0.3445	309.82251	13.66495	12.3675
7	12.523	VB	0.2855	180.14458	9.49024	7.1910
8	14.599	BB	0.3335	298.49396	13.52247	11.9153
9	20.198	BB	0.4418	92.47723	3.15698	3.6915
10	22.678	BB	0.4698	196.62164	6.34113	7.8487
Totals :				2505.13517	174.69458	

ANEXO 20

TIEMPOS DE RETENCIÓN Y % DE ÁREA DE LOS PICOS DEL CROMATOGRAMA DE *Berberis cummutata* Eichler (HUANCACHU).

Signal 2: DAD1 B, Sig=520,4 Ref=off

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	7.415	BV	0.1271	1060.83679	127.43546	24.8133
2	7.832	VV	0.1684	13.39296	1.14575	0.3133
3	8.177	VB	0.2014	8.96396	6.17308e-1	0.2097
4	9.327	VB	0.2538	9.85975	5.38055e-1	0.2306
5	12.364	BB	0.2980	3167.73340	163.50868	74.0942
6	16.873	BB	0.3704	14.49242	5.98631e-1	0.3390
Totals :				4275.27926	293.84389	

ANEXO 21

TIEMPOS DE RETENCIÓN Y % DE ÁREA DE LOS PICOS DEL CROMATOGRAMA DE *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (CHEQCHE).

Signal 2: DAD1 B, Sig=520,4 Ref=off						
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	7.106	BV	0.1327	134.97701	15.63694	8.5736
2	7.843	VB	0.1450	25.45546	2.67497	1.6169
3	8.566	BB	0.1926	113.03085	8.87260	7.1796
4	9.330	BV	0.1902	395.72202	31.57801	25.1358
5	9.974	VV	0.2700	16.88552	9.47245e-1	1.0725
6	11.113	VB	0.3406	164.14453	7.34920	10.4263
7	12.428	BB	0.2814	229.82741	12.33350	14.5984
8	14.482	BB	0.3289	230.89703	10.56708	14.6663
9	20.038	BB	0.4415	30.05021	1.00318	1.9088
10	22.484	BB	0.4592	233.34644	7.66426	14.8219
Totals :				1574.33647	98.62699	

ANEXO 22

TIEMPOS DE RETENCIÓN Y % DE ÁREA DE LOS PICOS DEL CROMATOGRAMA DE *Vaccinium floribundum* Kunth (ALAYBILÍ).

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	7.460	VV	0.1343	13.71833	1.56516	6.5804
2	9.396	BB	0.2052	11.55047	8.57045e-1	5.5405
3	12.536	BB	0.2926	183.20430	9.51484	87.8791
Totals :				208.47310	11.93704	