

# UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ MARÍA ARGUEDAS

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



**EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DEL COLORANTE ANTOCIÁNICO EXTRAÍDO A PARTIR DEL FRUTO SILVESTRE CAPACHU (*Hesperomeles escalloniifolia Schlttdl*) DURANTE EL ALMACENAMIENTO DE UNA BEBIDA GASIFICADA.**

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

**TESISTA**

Br. GARCIA NAUTO, Nidia.

**ASESOR**

Ing. TAIPE PARDO, Fredy.

**ANDAHUAYLAS – PERÚ**

**2014**

## DEDICATORIA

A **Dios**, porque a lo largo de mi vida me ha enseñado que debo hacerme cargo de lo posible, pues él se encargara de lo imposible.

A mis padres **Cirilo y Victoria**, quienes me guiaron por el buen camino, por ser mi ejemplo de trabajo, sacrificio, entrega y amor, por la confianza de siempre y la seguridad de saber que este momento llegaría.

A mis hermanos por ser mi motivación y a todas las personas que aman la vida, la respetan, aprenden de ella cada día y luchan por un mañana mejor.

**Nidia Garcia Nauto**

## PRESENTACIÓN

El presente trabajo de investigación se desarrolla para optar el título profesional de Ingeniera Agroindustrial, cuyo informe contempla el estudio de la estabilidad del colorante antociánico extraído a partir del fruto silvestre Capachu (*Hesperomeles escalloniifolia Schlttdl*) durante el almacenamiento en una bebida gasificada, cuya evaluación de la estabilidad del colorante es por cuantificación del contenido total de antocianinas (mg /100 g de bebida), variación de color por absorbancias (nm) y análisis organoléptico (color, aroma y sabor) durante los 60 días de almacenamiento. Los datos obtenidos se analizan estadísticamente a través del diseño factorial, análisis de varianza (ANOVA) y comparaciones múltiples LSD ( $\alpha = 0.05$ ) con software statgraphics centurión XVI.II y minitab 15.

La investigación tiene como objetivo general el de evaluar la estabilidad del colorante antociánico extraído del fruto silvestre Capachu en una bebida gasificada almacenadas a Temperaturas (7 °C, 18 °C y 30 °C) y tiempos (15, 30, 45 y 60 días), teniendo en cuenta los factores que influyen directamente en la estabilidad de las antocianinas, sin embargo también existen otros factores que influyen en la bebida, tales como las propiedades fisicoquímicas.

De esta manera se demuestra que las bebidas con colorante antociánico son inestables en temperaturas altas, pero estables en temperaturas bajas, es decir a mayor Temperatura (°C) y Tiempo (días) de almacenamiento el nivel de influencia de estos factores es alto e influye significativamente en la bebida gasificada con colorante antociánico Capachu durante el almacenamiento.

## **AGRADECIMIENTO**

Gracias a Dios quien me ha dado la sabiduría, la fuerza y perseverancia para culminar una etapa más de mi vida, y por ser mi fortaleza espiritual.

A la Universidad Nacional José María Arguedas - Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial (EPIA) por haberme facilitado los equipos y laboratorios para realizar la presente investigación.

A mis padres, Cirilo Garcia Curo y Victoria Nauto Quispe por todo su amor, apoyo y esfuerzo para lograr que sea una mejor persona y darme la mejor educación posible, gracias por amarme tanto.

A mis hermanos Marizol, Yoel, Thalia y Breinster por ser el motivo y motor de mi vida y por cada alegría que traen a mi vida, los amo con todo mi corazón.

A mi asesor al Ing. Fredy Taipe Pardo por la dedicación de su tiempo, por su paciencia, apoyo y consejos para obtener un buen resultado.

A mis catedráticos: Ing. MSc. David Choque Quispe, Ing. MSc. Carlos Alberto Ligarda Samanez, Ing. MSc. Julio Cesar Sichez Muñoz y el Ing. Juvenal Rivas Leguia por compartirme sus experiencias académicas en las aulas universitarias.

A mis amigos y compañeros Abel, Rider, Lucio, Edgar, Oscar, Amilson, Jimmy, Fredy, William, Rosa, Violeta quienes me colaboraron en el desarrollo de la Tesis.

## ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA.....	ii
PRESENTACIÓN .....	iii
AGRADECIMIENTO.....	iv
ÍNDICE DE CUADROS.....	x
ÍNDICE DE ANEXOS .....	xv
RESUMEN.....	xviii
ABSTRACT .....	xx
<b>I. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
1.1. ANTECEDENTES.....	2
1.2. DESCRIPCIÓN DE LA MATERIA PRIMA EN ESTUDIO.....	7
1.2.1. FRUTO CAPACHU ( <i>Hesperomeles escalloniifolia Schltl</i> ).....	7
1.2.2. BEBIDAS CARBONATADAS.....	8
1.2.3. DIÓXIDO DE CARBONO (CO <sub>2</sub> ).....	9
1.2.4. CARACTERÍSTICAS GENERALES.....	10
1.2.5. REQUISITOS FÍSICOS Y QUÍMICOS.....	12
1.2.6. VALOR DE pH.....	12
1.2.7. MATERIAS PRIMAS PARA LA BEBIDA CARBONATADA.....	13
1.3. COLORANTES.....	14
1.3.1. CLASIFICACIÓN DE LOS COLORANTES.....	15
1.3.2. COLORANTES NATURALES.....	15
1.3.3. COLORANTES ORGÁNICOS.....	16
1.3.4. COLORANTES SINTÉTICOS.....	16
1.3.5. DEGRADACIÓN DEL COLOR.....	16
1.4. LAS ANTOCIANINAS.....	17
1.4.1. ESTABILIDAD DE LAS ANTOCIANINAS.....	19

1.4.2.	FACTORES QUE AFECTAN LA ESTRUCTURA DE LAS ANTOCIANINAS.....	20
1.4.3.	EFFECTOS BIOLÓGICOS DE LAS ANTOCIANINAS.....	20
1.4.4.	EFFECTO DEL pH.....	21
1.4.5.	EFFECTO DE LA TEMPERATURA.....	22
1.4.6.	LAS ANTOCIANINAS EN LA ALIMENTACIÓN.....	23
1.4.7.	DISTRIBUCIÓN.....	26
1.4.7.1.	EXTRACCIÓN Y AISLAMIENTO.....	26
1.4.7.2.	FACTORES QUE DETERMINAN LA EXTRACCIÓN.....	27
1.4.7.3.	MÉTODO DE EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN DE ANTOCIANINAS.....	28
1.4.8.	DETERMINACIÓN CONTENIDO DE ANTOCIANINAS EN BEBIDAS.....	29
1.4.9.	ESPECTROFOTOMETRÍA.....	30
<b>1.5.</b>	<b>JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>31</b>
1.6.	OBJETIVOS.....	33
1.6.1.	OBJETIVO GENERAL.....	33
1.6.2.	OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	33
1.7.	PROBLEMA.....	33
1.8.	HIPÓTESIS.....	33
<b>II.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>34</b>
2.1.	LUGAR DE EJECUCIÓN.....	34
2.2.	POBLACIÓN, MUESTRA Y UNIDAD DE ANÁLISIS.....	34
2.3.	EQUIPOS, MATERIALES, REACTIVOS E INSTRUMENTOS DE LABORATORIO...	34
2.3.1.	Material Vegetal.....	34
2.3.2.	Equipos.....	35
2.3.3.	Materiales.....	35
2.3.4.	Reactivos e insumos.....	36
2.4.	METODOLOGÍA.....	36

2.4.1.	SELECCIÓN DEL FRUTO SILVESTRE CAPACHU ( <i>Hesperomoles escalloniifolia Schlttdl</i> ). 40	
2.4.2.	ANÁLISIS FISCOQUÍMICOS DEL FRUTO SILVESTRE CAPACHU ( <i>Hesperomoles escalloniifolia Schlttdl</i> ).....	40
2.4.3.	OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ANTOCIÁNICO DEL FRUTO CAPACHU ( <i>Hesperomoles escalloniifolia Schlttdl</i> ) PARA LA ELABORACIÓN DE LA BEBIDA GASIFICADA. ....	40
2.4.4.	ENSAYOS PRELIMINARES PARA LA ELABORACIÓN DE LA BEBIDA GASIFICADA A PARTIR DEL EXTRACTO ANTOCIÁNICO CAPACHU ( <i>Hesperomoles escalloniifolia Schlttdl</i> ).....	41
2.4.5.	ESTANDARIZADO DE LA BEBIDA GASIFICADA CON COLORANTE ANTOCIÁNICO. ....	41
2.4.6.	ANÁLISIS FISCOQUÍMICO DURANTE EL ALMACENAMIENTO DE LA BEBIDA GASIFICADA CON COLORANTE ANTOCIÁNICO. ....	41
2.4.7.	MÉTODO PARA LA EVALUACION DE LA ESTABILIDAD DEL COLORANTE ANTOCIANICO CAHACHU ( <i>Hesperomoles escalloniifolia Schlttdl</i> ). ....	42
2.4.7.1.	CUANTIFICACIÓN DEL TOTAL DE ANTOCIANINAS MEDIANTE EL MÉTODO DEL pH DIFERENCIAL.....	42
2.4.7.2.	MÉTODO DE DETERMINACIÓN DEL COLOR POR ABSORBANCIA. ....	45
2.4.8.	MÉTODOS DE EVALUACIÓN SENSORIAL .....	46
2.4.9.	METODOLOGÍA DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO. ....	47
2.4.10.	TRATAMIENTOS DE ESTUDIO PARA LA EVALUACION SENSORIAL.....	51
<b>III.</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>53</b>
3.1.	RESULTADOS DE LA SELECCIÓN DEL FRUTO SILVESTRE CAPACHU ( <i>Hesperomoles escalloniifolia Schlttdl</i> ).....	53
3.2.	RESULTADOS DEL ANÁLISIS FISCOQUÍMICOS DEL FRUTO SILVESTRE CAPACHU ( <i>Hesperomoles escalloniifolia Schlttdl</i> ) FRESCO.....	53
3.3.	RESULTADOS DEL EXTRACTO ANTOCIÁNICO DEL FRUTO CAPACHU PARA LA ELABORACION DE LA BEBIDA GASIFICADA.....	54
3.4.	RESULTADOS DE CARACTERISTICAS FISCOQUÍMICAS DE LA BEBIDA GASIFICADA CON COLORANTE ANTOCIÁNICO ANTES DEL ALMACENADO. ....	55

3.5.	RESULTADOS DE ANTOCIANINAS PRESENTES EN LA BEBIDA GASIFICADA CON COLORANTE ANTOCIÁNICO CAPACHU ANTES DEL ALMACENADO. ....	55
3.6.	RESULTADOS DE CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DURANTE EL ALMACENAMIENTO DE LA BEBIDA GASIFICADA CON COLORANTE ANTOCIÁNICO CAPACHU. ....	57
3.7.	RESULTADOS DE LA ESTABILIDAD DEL COLORANTE ANTOCIÁNICO CAPACHU DURANTE EL ALMACENAMIENTO DE UNA BEBIDA GASIFICADA. ....	58
3.7.1.	CUANTIFICACIÓN TOTAL DE ANTOCIANINAS MEDIANTE EL MÉTODO DEL pH DIFERENCIAL. ....	59
3.7.2.	EVALUACIÓN DEL COLOR POR ABSORBANCIA (Abs 520 nm) A EN LA BEBIDA GASIFICADA CON COLORANTE ANTOCIÁNICO CAPACHU. ....	65
3.7.3.	ANÁLISIS SENSORIAL DE LA BEBIDA GASIFICADA CON COLORANTE ANTOCIÁNICO CAPACHU DURANTE EL ALMACENAMIENTO. ....	69
A.	ANÁLISIS DE VARIANZA PARA EL ATRIBUTO SABOR. ....	70
B.	ANÁLISIS DE VARIANZA PARA EL ATRIBUTO AROMA. ....	72
C.	ANÁLISIS DE VARIANZA PARA EL ATRIBUTO COLOR. ....	74
<b>IV.</b>	<b>DISCUSIÓN DE RESULTADOS. ....</b>	<b>77</b>
4.1.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS DE LAS CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS PROXIMALES DEL FRUTO SILVESTRE CAPACHU FRESCO. ....	77
4.2.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS DE LAS CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS PROXIMALES DE LA BEBIDA GASIFICADA CON COLORANTE ANTOCIÁNICO CAPACHU DURANTE EL ALMACENAMIENTO. ....	78
4.3.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS DE LA ESTABILIDAD DEL COLORANTE ANTOCIÁNICO CAPACHU EN LA BEBIDA GASIFICADA DURANTE EL ALMACENAMIENTO. ....	79

4.3.1. CUANTIFICACIÓN DEL TOTAL DE ANTOCIANINAS MEDIANTE EL MÉTODO DEL pH DIFERENCIAL DE LA BEBIDA GASIFICADA CON COLORANTE ANTOCIÁNICO CAPACHU .....	79
4.3.2. EVALUACIÓN DEL COLOR POR ABSORBANCIA (Abs 520 nm) A EN LA BEBIDA GASIFICADA CON COLORANTE ANTOCIÁNICO CAPACHU.....	82
4.3.3. ANÁLISIS SENSORIAL DE LA BEBIDA GASIFICADA CON COLORANTE ANTOCIÁNICO CAPACHU DURANTE EL ALAMCENAMIENTO.....	83
<b>V. CONCLUSIONES .....</b>	<b>85</b>
RECOMENDACIONES.....	87
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	88
ANEXOS.....	95

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1</b> Análisis Físico-químicos.....	11
<b>Cuadro 2</b> Análisis Microbiológico.....	11
<b>Cuadro 3</b> Análisis Organoléptico.....	11
<b>Cuadro 4</b> Dióxido de carbono.....	11
<b>Cuadro 5</b> Contenido de agua.....	12
<b>Cuadro 6</b> Requisitos físicos y químicos de aguas gaseosas con sabor.....	12
<b>Cuadro 7</b> Principales radicales de las antocianinas.....	18
<b>Cuadro 8</b> Material Vegetal.....	34
<b>Cuadro 9</b> Equipos.....	35
<b>Cuadro 10</b> Materiales.....	35
<b>Cuadro 11</b> Reactivos e insumos.....	36
<b>Cuadro 12</b> Reporte de resultados de la cuantificación del total de antocianinas mediante el método del pH diferencial.....	45
<b>Cuadro 13</b> Escala Hedónica para la determinación de los atributos (Sabor, Aroma y Color). ....	47
<b>Cuadro 14</b> Matriz de diseño experimental.....	49
<b>Cuadro 15</b> Tratamientos de la investigación.....	52
<b>Cuadro 16</b> Características biométricas del fruto silvestre Capachu.....	53
<b>Cuadro 17</b> Composición de pulpa, semilla, y cascara en 100g de fruto.....	53
<b>Cuadro 18</b> Características organolépticas del fruto.....	53
<b>Cuadro 19</b> Características fisicoquímica proximal en 100 g del fruto silvestre Capachu.....	54
<b>Cuadro 20</b> Características fisicoquímica del fruto silvestre Capachu fresco.....	54
<b>Cuadro 21</b> Reactivos para la extracción para 125 g de fruto seco (15 % H) molido.....	54

<b>Cuadro 22</b> Características fisicoquímicas del producto bebida gasificada con colorante antociánico inicial.....	55
<b>Cuadro 23</b> Resultados del cálculo de la absorbancia para determinar el contenido antociánico en la bebida gasificada.....	56
<b>Cuadro 24</b> Resultado del contenido antociánico presentes en la bebida gasificada inicial.....	56
<b>Cuadro 25</b> Resultado de la absorbancia a 520 (nm) de longitud de onda en la bebida gasificada inicial.....	57
<b>Cuadro 26</b> Comparación de datos evaluados de las características fisicoquímicas del producto durante el almacenamiento.....	57
<b>Cuadro 27</b> Resultados de la cuantificación del total de antocianinas presentes en la bebida gasificada durante el almacenamiento.....	59
<b>Cuadro 28</b> Resumen de los resultados de la cuantificación del total de antocianinas presentes en la bebida gasificada durante el almacenamiento.....	59
<b>Cuadro 29</b> Resultados del cálculo de la variación del contenido antociánico ( $\Delta$ <b>ANCs</b> ) y el porcentaje de la variación en cada 15 días de su evaluación.....	61
<b>Cuadro 30</b> Análisis de varianza (ANOVA) para el contenido antociánico ( $\Delta$ <b>ANCs</b> ), a diferentes condiciones de Tiempo (días) y temperatura (T °C) de almacenamiento.....	61
<b>Cuadro 31</b> Pruebas de Múltiple Rangos para Contenido de <b>ANCs</b> (mg/100 g) por Tiempo (t). Método: 95,0 porcentaje LSD.....	63
<b>Cuadro 32</b> Pruebas de Múltiple Rangos para Contenido de <b>ANCs</b> (mg/100 g) por Temperatura (C). Método: 95,0 porcentaje LSD.....	64
<b>Cuadro 33</b> Resultados de la lectura de absorbancia a (520 nm) en la bebida gasificada con colorante antociánico Capachu.....	66

<b>Cuadro 34</b> Variación de absorbancia ( $\Delta$ <b>Abs</b> ) y el porcentaje de la variación % ( $\Delta$ <b>Abs</b> ) en 15; 30; 45 y 60 días de almacenado la bebida gasificada con colorante antocianico Capachu.....	66
<b>Cuadro 35</b> Análisis de la Varianza para Absorbancia de la muestra (520 nm) Sumas de Cuadrados de Tipo III .....	67
<b>Cuadro 36</b> Análisis de la Varianza para SABOR - Sumas de Cuadrados de Tipo III .....	70
<b>Cuadro 37</b> Análisis de componentes de la varianza SABOR.....	71
<b>Cuadro 38</b> Análisis de la Varianza para AROMA - Sumas de Cuadrados de Tipo III .....	72
<b>Cuadro 39</b> Análisis de la Varianza para COLOR - Sumas de Cuadrados de Tipo III.....	74
<b>Cuadro 40</b> Análisis de componentes de la varianza COLOR.....	75

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> Clasificación de los colorantes (Almeida, 2012).....	15
<b>Figura 2</b> Estructura y sustituyentes de las antocianinas (Durst, R. 2001).....	18
<b>Figura 3</b> Estructuras de las antocianinas en función del pH, donde R son distintos grupos funcionales, siendo uno de ellos la pelargonidina (Cuevas, 2008).....	19
<b>Figura 4</b> Estructura de las antocianinas a diferentes valores de pH (Coultrate, 1984).....	23
<b>Figura 5</b> Diagrama de flujo para la extracción de antocianinas.....	29
<b>Figura 6</b> Diagrama de bloques procedimental. ....	39
<b>Figura 7</b> Diagrama de contrastación y variables. ....	49
<b>Figura 8</b> Representación gráfica de la variación de sólidos solubles (°Brix) y pH en la bebida gasificada con colorante antociánico. ....	58
<b>Figura 9</b> Representación gráfica de la variación de presión y densidad en la bebida gasificada con colorante antociánico. ....	58
<b>Figura 10</b> Variación del contenido Antociánico (mg / 100g) en la bebida gasificada con colorante antociánico durante el almacenamiento, a diferentes condiciones de Tiempo (días) y Temperatura (°C). ....	60
<b>Figura 11</b> Resumen de la variación del contenido antociánico (mg/ 100g) en la bebida gasificada con colorante antociánico durante el almacenamiento. ....	62
<b>Figura 12</b> Interacción del tiempo (días) y Temperatura (°C) del contenido antociánico (mg/ 100g) en la bebida gasificada con colorante antociánico durante el almacenamiento.....	63
<b>Figura 13</b> Comparación de la influencia de tiempo en el contenido antociánico de la bebida gasificada con colorante antociánico. ....	64
<b>Figura 14</b> Comparación de la influencia de Temperatura en el contenido antociánico de la bebida gasificada con colorante antociánico. ....	65

<b>Figura 15</b> Interacción de los factores en la variación de la absorbancia ( $\Delta$ <b>Abs</b> ) de la bebida gasificada con colorante antociánico Capachu.....	68
<b>Figura 16</b> efectos principales para la variación de absorbancia ( $\Delta$ <b>Abs</b> ) de la bebida gasificada con colorante antociánico. ....	69
<b>Figura 17</b> porcentajes de intervalos LSD SABOR.....	71
<b>Figura 18</b> Porcentajes de intervalos LSD SABOR .....	71
<b>Figura 19</b> Componentes de varianza del tiempo (días).....	72
<b>Figura 20</b> Porcentajes de intervalos LSD AROMA.....	73
<b>Figura 21</b> Tabulación de las variables tiempo (días) y temperatura ( $^{\circ}$ C).....	73
<b>Figura 22</b> Porcentajes de intervalos LSD COLOR .....	74
<b>Figura 23</b> Componentes de varianza de Temperatura ( $^{\circ}$ C).....	75
<b>Figura 24</b> Tabulación de las variables tiempo (días) y temperatura ( $^{\circ}$ C).....	76

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1</b>	Fotos de recolección de la materia prima .....	96
<b>Anexo 2</b>	Fotos de las pruebas preliminares de la bebida gasificada colorante Antociánico, almacenados durante 6 meses.....	97
<b>Anexo 3</b>	Fotos de procesos de extracción del colorante Antociánico Capachu.....	98
<b>Anexo 4</b>	fotos del proceso de elaboración y embotellado de la bebida gasificada con colorante Antociánico en la Empresa Embotelladora Chanka S.R.L.....	99
<b>Anexo 5</b>	Fotos de almacenado a diferentes condiciones de Temperatura.....	100
<b>Anexo 6</b>	Desarrollo experimental de cuantificación y evaluación del colorante Antociánico en la bebida gasificada.....	101
<b>Anexo 7</b>	Lectura de la absorbancia por triplicado de la bebida gasificada con colorante Antociánico Capachu para la cuantificación de las antocianinas.....	102
<b>Anexo 8</b>	Fotos de análisis sensorial con panelistas seminternados.....	106
<b>Anexo 9</b>	Ficha de análisis sensorial para sabor.....	107
<b>Anexo 10</b>	Ficha de análisis sensorial para aroma.....	107
<b>Anexo 11</b>	Ficha de análisis sensorial para color.....	108
<b>Anexo 12</b>	Resultados del análisis sensorial de la bebida gasificada.....	109
<b>Anexo 13</b>	Clasificación de los alimentos según su acidez.....	110
<b>Anexo 14</b>	Análisis fisicoquímico proximal.....	110
<b>Anexo 15</b>	NTP para bebidas gasificadas.....	111
<b>Anexo 16</b>	Resultados del Análisis fisicoquímico proximal en la bebida gasificada con colorante Antociánico.....	112
<b>Anexo 17</b>	Fotos de Análisis fisicoquímico proximal en la bebida gasificada con colorante Antociánico.....	113

## ABREVIATURAS Y UNIDADES

<b>A</b>	: Absorbancia de la muestra.
<b>ANOVA</b>	: Análisis de varianza.
<b>ANCs</b>	: Antocianinas
<b>cm</b>	: Centímetros.
<b>DF</b>	: Factor de dilución.
<b><math>\epsilon</math></b>	: Coeficiente de extinción molar de la Cianidina-3-glucosido (26900 L* cm <sup>-1</sup> * mol <sup>-1</sup> ).
<b>g</b>	: Gramos.
<b>HCl</b>	: Ácido clorhídrico.
<b>KCl</b>	: Cloruro de potasio.
<b>L</b>	: Espesor de la cubeta (1 cm).
<b>l</b>	: Litros.
<b>MW</b>	: Peso molecular de la Cianidina-3-glucosido (449,6 g/mol).
<b>m</b>	: Metros.
<b>m.s.n.m</b>	: Metros sobre el nivel del mar.
.	
<b>ml</b>	: Mililitros.
<b>mm</b>	: Milímetros.
<b>nm</b>	: Nanometros.
<b>pH</b>	: Potencial de hidrogeniones.
<b>S</b>	: Desviación estándar.
<b>T</b>	: Temperatura (°C).
<b>UV</b>	: Ultravioleta visible.

- V** : Volumen final en litros.
- Wt** : Peso de la muestra en g.
- X** : Promedio de 3 repeticiones.
- $\Delta$  Abs** : Variación de absorbancias.
- $\lambda$**  : Longitud de onda.

## RESUMEN

Las antocianinas presentes en las plantas, actualmente tienen una importancia funcional en la alimentación, debido a su beneficio en la prevención de enfermedades como el cáncer, parkinson, etc. Además la estabilidad de las antocianinas está influenciado directamente por los factores temperatura y tiempo, sin embargo existen otros factores directamente como el pH y con menor efecto el: oxígeno, luz, metales, y azúcares.

En la presente investigación se evaluó la estabilidad del colorante antocianínico extraído a partir del fruto silvestre Capachu (*Hesperomoles escalloniifolia Schldt*) en una bebida gasificada durante los días 15; 45; 30 y 60 a diferentes temperaturas de almacenamiento de 7; 18; y 30 °C, se utilizó un diseño factorial con dos factores de tiempo y temperatura con sus respectivos niveles mencionadas anteriormente. Para evaluar la estabilidad se utilizó metodología de cuantificación de ANCs totales, método del pH diferencial propuesta por **Giusti y Wrolstad (2001)**, así mismo la evaluación del color por absorbancia a (520 nm) de longitud de onda por espectrofotometría UV-Visible, y características organolépticas como sabor, aroma y color; además en los días de evaluación se realizó el análisis fisicoquímico de sólidos solubles (°Brix), PH, temperatura, presión y densidad, según procedimientos descritos por la **Association of official Analytical Chemistry (AOAC)**.

Los resultados de cada metodología fueron evaluados por separado mediante un análisis de varianza y una prueba de comparación de rangos múltiples (LSD) y un nivel de confianza del 95%, según estos, para las bebidas almacenadas a una temperatura de 7 °C que varío en un 29 % del contenido ANCs, y un 18 % del color por absorbancia muestran una mínima variación, mientras que, a 30 °C variando en un 65 % del contenido de ANCs y un 52 % del color por absorbancia mostrando una variación máxima, lo cual la temperatura de almacenamiento varían estadísticamente ( $P > 0,05$ ) significativo e influyen en la estabilidad del colorante

antociánico. Consecuentemente, se demuestra que la interacción de los dos factores tiempo (días) y temperatura (°C) estudiados influyen significativamente en la estabilidad de las antocianinas presentes en la bebida gasificada con colorante antociánico.

La bebida se sometió a un estudio fisicoquímico y organoléptico, por lo tanto el periodo de estabilidad es de 60 días a partir de la fecha de elaboración, además los parámetros evaluados en la bebida se mantuvieron dentro de los rangos indicados por las normas NTP 214.002:1974 BEBIDAS GASEOSAS. Teniendo en cuenta que los factores que influyen directamente en la estabilidad de las antocianinas son el Tiempo (días) y Temperatura (°C), en el que estadísticamente se demostró que no existe diferencias significativas respecto al aroma, mientras que al sabor y color si presenta diferencias significativas entre los tratamientos.

Finalmente se reporta mayor estabilidad en las bebidas almacenadas a temperaturas bajas debido a que son más estables y conservan mejor sus características fisicoquímicas y organolépticas.

**PALABRAS CLAVES:** Antocianinas, cuantificación, estabilidad, análisis sensorial, absorbancia.

## ABSTRACT

The anthocyanins in plants currently have functional importance in the diet due to their benefit in preventing diseases such as cancer, Parkinson's, etc. Besides the stability of anthocyanins is directly influenced by temperature and time factors, however there are other factors directly as pH and less effect: oxygen, light, metals, and sugars.

In this research the stability of anthocyanin dye extracted from wild fruit Capachu (*Hesperomoles escalloniifolia* Schltl) in a carbonated beverage during the 15 days was assessed; 45; 30 and 60 at different temperatures storage 7; 18; and 30 ° C, was used a factorial design with two factors of time and temperature with their respective levels mentioned above. To assess the stability total quantification methodology ANCs, pH differential method proposed by Giusti and Wrolstad (2001) and same color evaluation by absorbance (520 nm) wavelength UV-Visible spectrophotometer was used, and organoleptic characteristics such as flavor, aroma and color; also in the days of assessment physicochemical analysis of soluble solids (° Brix), pH, temperature, pressure and density was performed according to procedures described by the Association of Official Analytical Chemistry (AOAC).

The results of each method were evaluated separately by analysis of variance and a comparison test of multiple ranges (LSD) and a confidence level of 95 %, according to these, for drinks stored at a temperature of 7 ° C to various in 29 % of ANCs content, and 18% color by absorbance show minimal variation, whereas at 30 ° C varying in 65 % of the content of CNRs and 52 % of the color sampling a maximum absorbance variation, which the storage temperature vary statistically ( $P > 0,05$ ) significant and influence the stability of anthocyanin dye. Consequently, it is demonstrated that the interaction of the two factors (days) and temperature (°C) studied significantly influence the stability of anthocyanin in the carbonated beverage anthocyanin dye.

The drink was subjected to a physicochemical and organoleptic study, therefore the stability period is 60 days from the date of preparation, besides the parameters evaluated in the drink were within the ranges indicated by the rules NTP 214 002: 1974 SOFT DRINKS. Given the factors which directly influence the stability of anthocyanin are the time (days) and temperature (°C), wherein statistically demonstrated that no significant differences in aroma, whereas the flavor and color if significant differences between treatments.

Finally reported greater stability in beverages stored at low temperatures because they are more stable and better maintain their physicochemical and organoleptic characteristics.

**KEYWORDS:** Anthocyanins, quantification, stability, sensory analysis, absorbance.

## I. INTRODUCCIÓN

Las bebidas refrescantes siempre han representado parte de la vida y dieta de la mayoría de las personas, detectando aquéllos que tienen un gran potencial nutraceutico, siendo estos los que han presentado el mayor crecimiento en la actualidad. Así mismo 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, 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. 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 en el fruto de estudio Capachu (*Hesperomeles escalloniifolia* **Schltl**), presenta las características similares según la investigación realizada por **Aroni, (2013)** el contenido de antocianinas y su estabilidad en diferentes factores de temperaturas y pH, lo cual demuestra que son estables a temperatura y pH de productos como bebidas y pueden ser utilizados como aditivos en la industria alimentaria.

La falta de conocimiento sobre la importancia y uso de estos colorantes naturales se viene desaprovechando como recurso potencial en nuestra región, debido a que aún no has sido sujetos a investigación en productos alimenticios que demuestren su importancia como colorante natural de antocianinas, por tal razón dentro de los objetivos en el presente trabajo de investigación se planteó evaluar la estabilidad de las ANC's a diferentes factores de tiempos

(días) y temperaturas (°C) durante el almacenamiento de una bebida gasificada con colorante antociánico extraído a partir del fruto silvestre Capachu.

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

**Arrazola, et al., (2013).** En su investigación sobre **“Obtención y Evaluación de la Estabilidad de Antocianinas de Berenjena (*Solanum melongena* L.) En Bebidas”** las bebidas con pigmentos fueron analizadas en los cambios en color y contenido de antocianinas durante el almacenamiento del producto a 4°C y 25°C. La temperatura de almacenamiento influyó en la estabilidad de antocianinas y también en los parámetros de color, siendo la temperatura de 25°C la que produce mayor velocidad de degradación en ambas bebidas. La bebida isotónica y la bebida a base de aloe vera con malto dextrina y almacenada a 4°C presentaron mayor retención de antocianinas (54 y 77.5% respetivamente) en un periodo de 15 días.

**Aroni, (2013).** En su Investigación **“Evaluación De La Estabilidad De Antocianinas Presentes En los Frutos de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltl (CAPACHU), *Berberis cummutata* Eichler (HUANCACHU), *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (CHEQCHE) Y *Vaccinium floribundum* Kunth (ALAYBILÍ) frente al pH Y Temperatura.”** menciona y concluye que en el fruto de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltl (Capachu), la delfinidina 15,6670 %, cianidina 7,1910 %, petunidina 11,9153 %, peonidina 3,6915 % y malvidina 7,8487 %, por lo tanto el contenido de antocianinas en

los frutos evaluados varía de acuerdo a la especie vegetal en fruto seco sin semillas de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltzl (Capachu) tiene un contenido total de antocianinas de **2026,201 mg/100 g** y es una de las especies promisorias de los frutos similares estudiados en esta investigación.

Las antocianinas presentes en los frutos de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltzl (Capachu) presenta una mejor estabilidad a una temperatura de 20 °C y 30 °C a pH de 3, en 30 días varió en 4,53% la absorbancia. Por lo tanto recomienda estudios sobre estabilidad de los colorantes antociánicos.

**Almeida, (2012).** En su trabajo de investigación **“Extracción y caracterización del colorante natural del maíz negro (*Zea mays L.*) y determinación de su actividad antioxidante”**, concluye que 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.

**Aguilera, et al., (2011).** Estudio en su investigación **“Propiedades funcionales de las antocianinas”**, y concluyeron 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.

**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 pigmentos de mora y mortiño no fueron agradables.

**Aguilera, (2009).** En su investigación “**Caracterización y estabilidad de antocianinas de higo, variedad Mission**”, 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.

**Cuevas, et al., (2008).** Menciona en su investigación “**Análisis y caracterización de antocianinas en diferentes variedades de maíz (*Zea mays*) Boliviano**”, 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.

Este es uno de los factores más importantes. Las antocianinas son más estables en un medio ácido que en un medio neutro o alcalino.

**Garzón, (2008).** Menciona en su revisión sobre “**Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos**”. Concluye que las antocianinas son pigmentos naturales que representan un potencial para el reemplazo competitivo de colorantes sintéticos en alimento, productos farmacéutico para la obtención de productos con valor agregado dirigidos al consumo humano. Sin embargo, mucho hay por aprender en cuanto a su estabilidad en matrices específicas y a la relación entre su estructura, la actividad biológica de los metabolitos bioactivos, los efectos sinérgicos y las dosis efectivas.

**Gallego, (2007).** Menciona en su revisión sobre “**Sustitución de colorantes en alimentos**” que en el campo de los colorantes se avanza en la sustitución empleando pigmentos de origen natural especialmente los carotenoides, antocianinas y clorofilas.

**Fuentes, (2005).** En su investigación de “**Extracción, cuantificación y estabilidad de colorantes naturales presentes en los frutos de *Prunus capuli* Cav. (Cereza), *Rubusurticaefolius* 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.

Fabricación de bebidas carbonatadas comienza en Nueva York en 1832, cuando John Matthews inventa un aparato para mezclar agua con dióxido de carbono, y además de agregar sabor. De la popularidad de la bebida nacen negocios que mezclan el agua

carbonatada con sabores a elección, llamadas fuentes de soda. Sabores como naranja, limón, uva eran muy demandados. En aquella época la gaseosa también se vendía en farmacias como remedio para curar diversos males.

En 1885, W.B. Morrison un farmacéutico propietario de "Old Corner Drug Store" en Waco, Texas, desarrolló un distinguido sabor en su fuente de soda. Su nombre Dr. Pepper, la más antigua gaseosa, que aún se vende en Estados Unidos.

En 1898, un farmacéutico de Carolina del Norte, Caleb Bradham, busca un tónico para el dolor de cabeza a la que le agrega pepsina. En 1903, registró la marca de esta bebida como "Pepsi". Y de ahí nace una gran nueva industria: la de las bebidas carbonatadas y por ende empieza la aparición de diversas marcas de bebidas de cola, las cuales han ido incorporando diferentes ingredientes para darles un toque particular (<http://es.scribd.com/doc/52456457/la-historia-de-las-bebidas-carbonatadas>).

**Huayhua, (2008). "Antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante en la elaboración de una bebida refrescante a partir del extracto de tusa de maíz morado (*Zea mays L.*)"** concluye que según las características de la tusa (coronta) de maíz morado, en cinco variedades analizadas, la tusa presenta antocianinas (ANCs) en el orden de 1343,1474 mg/ 100g muestra, siendo la variedad de C5 (Canta de Huanta). Se obtuvo el extracto de tusa (coronta) de maíz morado de la variedad C5, estableciéndose las siguientes condiciones de extracción: pH  $3 \pm 0,2$  dilución de 1:20, tusa: agua. Se caracterizó el extracto teniendo los siguientes resultados: antocianinas 351,618 mg ANCs / 100 g fenoles totales 613,060 mg ac, clorogenico/ 100 g de la muestra y la capacidad antioxidante 1241, 407 ug. Eq. Trolox / 100 g de muestra.

Los análisis de ANCs, FNTs y AAO antes y después del pasteurizado, reportan la estabilidad de estas sustancias en la bebida por efecto del pasteurizado. De igual

manera la adición de las esencias (canela en polvo, y piña) no afectan la concentración de las ANCs, FNTs y AAO.

## **1.2. DESCRIPCIÓN DE LA MATERIA PRIMA EN ESTUDIO.**

### **1.2.1. FRUTO CAPACHU (*Hesperomeles escalloniifolia* Schlttdl)**

Según Aroni, (2013). Estos frutos son dulces y ácidos en su madurez, tienen una piel de color guindo oscuro o casi negro, su diámetro está alrededor de 4 – 8 mm, así mismo menciona que estos frutos crecen en altitudes que van desde 2 500 y 4 080 m.s.n.m. y su cultivo en su mayoría se encuentra aún en estado silvestre.

#### **a) Descripción botánica.**

*Hesperomeles escalloniifolia* (Schlttdl.) C.K. Schneides 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 color rojo brillante, que al madurar toman un color rojo azul oscuro o morados, son ácidas pero de sabor agradable (Bernal, 1989).

#### **b) Taxonomía**

Según Tupayachi, (2013), En su investigación menciona que según el herbario VARGAS CUZ (2013) y Cronquist (1981), compatibiliza con el grupo del sistema fitogenético de las angiospermas (Angiosperm Phylogeny Group, APG III (2009)), su clasificación taxonómica es la siguiente:

#### **CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA**

División: Magnoliophyta (Angiospermas)

Clase: Magnoliopsida =Tricolpados (Eudicotiledóneas)

Subclase: Rosidae

Super orden: Rosanae

Orden: Rosales

Familia: Rosaceae

Género: *Hesperomeles*

Especie: *Hesperomeles Escalloniifolia* (Schltdl.) C.K. Schneid

Sinonimias: *Crataegus escalloniifolia* Schltdl.; *Hesperomeles pernettyoides* var. *Microphylla* Wedd.; *Osteomelese scalloniifolia* (Schltdl) Decne.

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

#### 1.2.2. BEBIDAS CARBONATADAS.

Las bebidas carbonatadas son bebidas no alcohólicas, que contienen dióxido de carbono (anhídrido carbónico) en agua purificada, lista para el consumo directo con o sin adición de edulcorante, acidificantes, colorantes naturales o artificiales permitidos, sometida a un proceso tecnológico apropiado. En algunos de los países del área también se le llama simplemente gaseosa. (Pérez, *et al.*, 2009).

Hoy en día, una de las bebidas más consumidas en todo el mundo, especialmente entre la población joven. El consumo comienza a muy temprana edad y aumenta durante la adolescencia. Se las conoce en diferentes países como gaseosa, refresco, refresco con gas, soda o softdrink. Son bebidas saborizadas, efervescentes sin contenido de alcohol (<http://es.scribd.com/doc/52456457/la-historia-de-las-bebidas-carbonatadas>).

Estas bebidas representan un problema importante para nuestra salud, no sólo por lo que contienen, sino también por los alimentos que desplaza de la dieta. El consumo

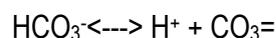
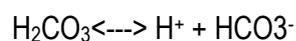
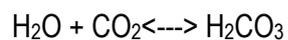
importante de estas bebidas se asocia a una ingesta más baja de numerosas vitaminas, minerales y fibra. Son un factor de riesgo importante para la salud en general, ya que contribuyen, sin lugar a dudas, con el sobrepeso y la obesidad. A su vez, aumentan el riesgo de osteoporosis, problemas dentales, renales y cardíacos entre otras enfermedades (**Camacho A, 2009**).

### 1.2.3. DIÓXIDO DE CARBONO (CO<sub>2</sub>).

Es un gas incoloro e insípido. El uso de este compuesto en la industria alimentaria es muy extenso; en estado líquido puede usarse como refrigerante, especialmente durante el transporte y almacenamiento de productos congelados. También puede utilizarse para la conservación mediante atmósferas modificadas, en la producción de refrescos carbonatados o como subproducto de la fermentación de la levadura, así como para la elaboración del pan o la cerveza. En definitiva, un elemento con múltiples usos (**Gimferrer, 2009**).

Estas bebidas suelen consumirse frías, para ser más refrescantes y para evitar la pérdida del dióxido de carbono, que le otorga la efervescencia.

El agua con dióxido de carbono produce un equilibrio químico con el dióxido de carbono.



El nivel óptimo de carbonatación varía de acuerdo con el aroma y sabor y con las características de las distintas bebidas. El CO<sub>2</sub> es un gas incoloro con un ligero olor picante que se disuelve parcialmente en agua formando ácido carbónico.

El ácido es inestable y no se ha aislado nunca, ya que se forman dos clases de sales: los carbonatos y los bicarbonatos. En la práctica, el CO<sub>2</sub> es el único gas apropiado para conseguir refrescos chispeantes.

Su solubilidad es tal que permite la liberación de un atractivo remolino de burbujas del cuerpo de la bebida cuando se agita suavemente. El gas es también inerte, no es tóxico, prácticamente no tiene sabor y está disponible en forma a un costo razonable. Los refrescos carbonatados dentro de un envase cerrado están en una situación de equilibrio, ya que el gas del espacio de cabeza proporciona la presión de equilibrio necesaria para mantener el resto del gas en solución. La presión de equilibrio varía de acuerdo con el dióxido de carbono en solución y con la temperatura del líquido (**Pérez et al., 2009**).

La bebida gasificada jarabeada deberá cumplir con los requisitos indicados en la norma. **INDECOPI (ex – ITINTEC) 214.001. BEBIDAS GASIFICADAS. JARABEADAS** Dióxido de carbono: No menor de 1,5 Vol. ni mayor de 5,0 vol.

#### **1.2.4. CARACTERÍSTICAS GENERALES.**

Las gaseosas con o sin sabor deberán estar libres de turbidez o sedimento no característico, de ligosidad, de sabor no característico o aroma a fermentado, además deberán ser elaboradas en las condiciones higiénico sanitarias que establece la **Norma ICAITI 34 136**, que sean aplicables a este tipo de producto. (**Normas del Instituto Centro Americano de Investigación Técnica Industrial**).

Tomando como “documento de referencia para la certificación”, la Norma Técnica Peruana “214,002 octubre 1985 bebidas gasificadas jarabeadas requisitos ítem 6,4; 7,2; 7,5; 7,6” emite los siguientes resultados para el Certificado de Calidad No. 3666/2007, el laboratorio Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C:

**Cuadro 1** Análisis Físico-químicos.

Análisis	Resultados	Especificaciones NTP 214,001:1985
Acidez (expresada en ácido cítrico) g/100 ml	0,40	Max. 0,50
Cafeína (ppm)	20,4	Max. 200
pH	3,20	2,5 a 4,0
Grado alcohólico (g/100 ml)	0.00	Max. 0,50
Materias extrañas (g/100 ml)	0,00	0,00
Colorante artificial	Rojo Fresa	Rojo No. 40 (Rojo fresa )

**Fuente:** (Distribución, división de nomenclatura arancelaria, interesado jps/rra/elv/byy)

**Cuadro 2** Análisis Microbiológico.

Análisis	Resultados	Especificaciones NTP 214,001:1985
Número aerobios mesófilas: ufc/ml est.	9	Max. 50
Número coliformes: NMP/ml	< 3	Menor a 3
Número hongos: Mohos: ufc/ml	< 1	Max. 10
Levaduras : ufc/ml est	< 1	Max. 30
Determinación de salmonella / 25 ml	Ausencia	Ausencia

**Fuente:** (Distribución, división de nomenclatura arancelaria, interesado jps/rra/elv/byy)

**Cuadro 3** Análisis Organoléptico.

Análisis	Resultados	Especificaciones NTP 214,001:1985
Aspecto	Líquido fluido, gasificado	Característico al producto, libre de cuerpos extraños
Color	Rojo	Característico al producto
Olor	A gaseosa fresa	Característico al producto
Sabor	A gaseosa fresa	Característico al producto

**Fuente:** (Distribución, división de nomenclatura arancelaria, interesado jps/rra/elv/byy)

**Cuadro 4** Dióxido de carbono.

Análisis	Resultados	Especificaciones NTP 214,001:1985
Dióxido de carbono (% volumen)	2,9	No menor a 1,5 volúmenes ni mayor de 5 volúmenes

**Fuente:** (Distribución, división de nomenclatura arancelaria, interesado jps/rra/elv/byy)

Posteriormente el Informe No. 1903-2007-SUNAT-3D0500 del Laboratorio Central de la Intendencia de Aduana Marítima del Callao determinó el contenido de agua aplicando el Método 925.45 (AOAC):

**Cuadro 5** Contenido de agua.

Producto	% de Agua	° Brix
Kola Fresa con fibra soluble	92,4	6,7

**Fuente:** (Distribución, división de nomenclatura arancelaria, interesado jps/rra/elv/byy)

**(NTP 214.002:1974 BEBIDAS GASEOSAS. Métodos de ensayo).**

#### 1.2.5. REQUISITOS FÍSICOS Y QUÍMICOS.

El agua gaseosa sin sabor deberá contener un mínimo de un volumen de gas absorbido en un volumen de agua.

**Nota:** El volumen de gas, es el volumen de dióxido de carbono (anhídrido carbónico) que absorbe el agua a la presión atmosférica normal (101,33 kPa = 760 mmHg) y a la temperatura de 15,56 °C.

El agua gaseosa con sabor deberá cumplir con los requisitos especificados en el siguiente cuadro:

**Cuadro 6** Requisitos físicos y químicos de aguas gaseosas con sabor.

Características	Requisitos
Dióxido de carbono (anhídrido carbónico), en volúmenes de gas absorbido por cada volumen de agua, mínimo	Toda bebida carbonatada debe contener Dióxido de Carbono.
pH, mínimo	2,36 – 3,96

#### 1.2.6. VALOR DE pH.

La escala práctica del pH comprende del cero (0) muy ácido al 14 muy alcalino, con el valor medio de pH que corresponde a la neutralidad exacta a 25 °C.

La acidez es un importante factor en todos los tipos de refrescos. El valor de pH también influye sobre los conservantes, los cuales tienen mayor actividad a bajos valores de pH

por ejemplo: el ácido benzoico y benzoatos cuya máxima actividad la realizan a valor de pH inferiores a 3,40. **(Cáceres, 2000)**.

La medición del pH se realiza fácilmente con un pH metro bien calibrado midiendo el potencial generado (en milivolts) por un electrodo de vidrio que es sensible a la actividad del ion Hidrogeno, este potencial es comparado contra un electrodo de referencia que genera un potencial constante e independiente del pH. Se recomienda que la mostrar este a 25 °C, que sea la temperatura de referencia para la medición de pH.

#### **1.2.7. MATERIAS PRIMAS PARA LA BEBIDA CARBONATADA.**

Las siguientes materias primas y aditivos alimentarios deberán cumplir con los requisitos exigidos por las normas ICAITI correspondientes, por el departamento de control de Alimentos del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de cada país o en su defecto por las Normas de Identidad y pureza para los Aditivos Alimentarios del **Codex Alimentarius**.

##### **❖ Edulcorantes Nutritivos y/o artificiales.**

Se podrán emplear los siguientes edulcorantes: azúcar refinado, azúcar blanco sin refinar, jarabe de glucosa, dextrosa, azúcar invertido, miel y fructosa ya sea en forma aislada o mezclada. Aspartame, Acesulfame, Sucrolosa, como edulcorantes artificiales.

##### **❖ Ingredientes Acidificantes.**

Se podrán agregar como acidificantes: ácido cítrico, ácido tartárico, ácido fosfórico, ácido láctico, ácido atípico, ácido málico y ácido fumárico.

- Acidez, ácido cítrico: Máximo 0,5 g/100 ml INDECOPI (ex – ITINTEC) 214.001.  
BEBIDAS GASIFIICADAS. JARABEADAS.

❖ **Sabores naturales y/o artificiales.**

Se podrán usar sabores naturales y/o artificiales en cantidades suficientes para lograr el efecto deseado en el producto

❖ **Sustancias conservadoras.**

Se podrá usar el ácido benzoico, ácido ascórbico o sus sales correspondientes de sodio o de potasio, en una dosis máxima de 1000 mg/L.

❖ **Otros Ingredientes y Aditivos.**

Cafeína, no más de 200 mg/L; sales de quinina, no más de 83 mg/L calculadas como sulfato de quinina; sal, vitaminas, bicarbonato de sodio, minerales y otros permitidos por el ICAITI y el Ministerio de Salud Pública de cada país.

❖ **Colorantes Artificiales.**

Existen colorantes artificiales autorizados en los cinco países del área para las aguas gaseosas con y sin sabor (Pérez, *et al.*, 2009).

### 1.3. COLORANTES.

El color y su uniformidad son componentes importantes en la calidad visual de los alimentos frescos y tienen un papel trascendental en la elección del consumidor el momento de comprar (Brennan, 2008).

La industria alimenticia con el objetivo de obtener productos que presenten los colores propios de los alimentos frescos o para presentar productos más llamativos para los consumidores utiliza diversos colorantes naturales o artificiales (Yúfera, 1995).

### 1.3.1. CLASIFICACIÓN DE LOS COLORANTES.

Existen diversas maneras de clasificar a los colorantes, con base en su naturaleza u origen (naturales o artificiales), por su grupo cromóforo (radical que le confiere un determinado color), como se puede ver en la Figura 4. (Almeida, 2012).

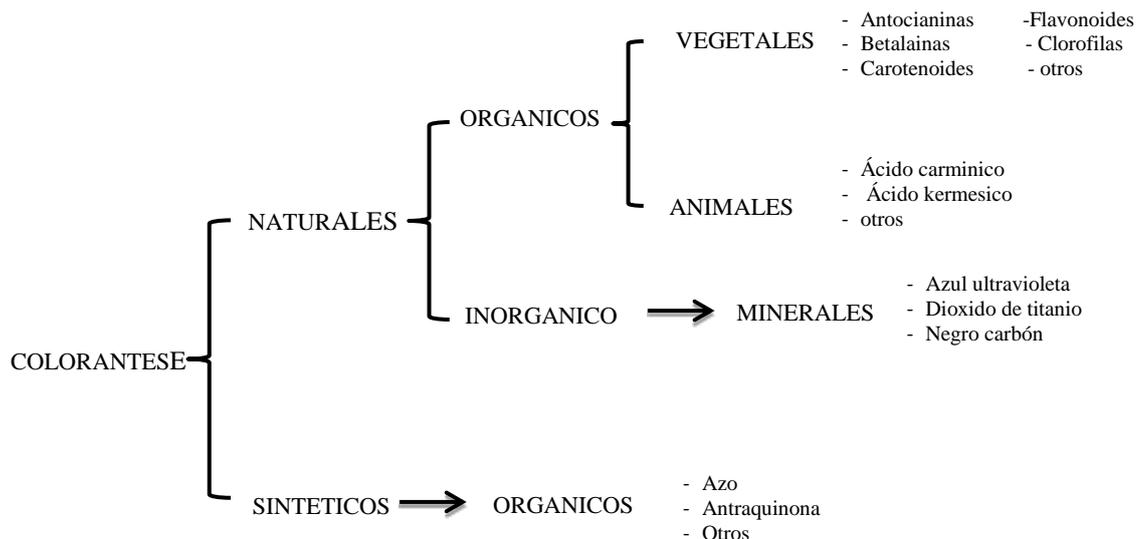


Figura 1 Clasificación de los colorantes (Almeida, 2012).

### 1.3.2. COLORANTES NATURALES.

Son pigmentos coloreados que se encuentran en la naturaleza y que se extraen por diferentes métodos (Cubero, *et al.*, 2002).

Las fuentes de las cuales se puede extraer estos colorantes son las planta superiores, algas, insectos y hongos. A pesar de la gran cantidad de superficie cultivada de plantas superiores, su baja concentración de colorantes no permite realizar una extracción rápida y económica (Sing, 1997).

### **1.3.3. COLORANTES ORGÁNICOS.**

Los colorantes orgánicos se caracterizan por tener en su estructura múltiples dobles enlaces conjugados, también se puede encontrar heteroátomos de nitrógenos y oxígeno **(Molina, 2009)**.

Colorantes vegetales: Se pueden extraer de diferentes estructuras de los vegetales, como son las raíces, cortezas, partes leñosas, hojas, flores, frutos y semillas **(Cubero et al., 2002)**.

Colorantes animales: El colorante más representativo de este grupo es el obtenido a partir de la cochinilla, ya que es considerado como el mejor de los colorantes naturales. Actualmente es utilizado para colorear jarabes, confituras y mermeladas **(Pérez, 2004)**.

### **1.3.4. COLORANTES SINTÉTICOS.**

Son pigmentos obtenidos por síntesis química. Pueden ser de dos clases: síntesis de moléculas nuevas o síntesis de moléculas iguales a las que se encuentran en el medio natural **(Cubero et al., 2002)**. En general, los colorantes sintéticos son más resistentes que los colorantes naturales; sin embargo, presentan problemas en su uso; por ejemplo, se decoloran por acción del ácido ascórbico, efecto importante en el caso de las bebidas refrescantes, en las que esta sustancia se utiliza como antioxidante. Los colorantes artificiales pueden utilizarse en forma soluble, como sales de sodio y potasio o bien absorbidos sobre hidróxido de aluminio formando lo que se conoce como laca. La utilización de un colorante soluble o insoluble depende de la forma en que se va a llevar a cabo la dispersión en el alimento **(Grupo Latino, 2007)**.

### **1.3.5. DEGRADACIÓN DEL COLOR.**

Los pigmentos enfrentan un problema, que es la degradación del color, la cual se puede presentar como consecuencia de la exposición a la luz (foto degradación), por acción de

la temperatura efecto conocido como oxidación térmica o descomposición térmica. Cuando los alimentos se someten a elevadas temperaturas, el color de los mismos cambia entre tonalidades que van desde un ligero amarillo hasta un intenso café, debido a las reacciones de caramelización que se producen en su interior (**Badui, 1988**).

La degradación de los pigmentos se debe especialmente a reacciones de oxidación las mismas que pueden ser o no enzimáticas. Los colorantes naturales pueden oxidarse al estar en contacto con el oxígeno atmosférico, la luz, el calor. El efecto de la temperatura es muy importante, tanto en ausencia de agua (productos deshidratados) como en su presencia (productos hidratados), la temperatura siempre acelera la velocidad de la reacción de degradación (**Fennema, 2000**).

La acción de la luz en los colorantes produce su ruptura y como consecuencia de esto se forman compuestos incoloros de bajo peso molecular. Estas reacciones presentan un efecto significativo en la industria de alimentos, debido a que los colorantes pierden su color característico. Los cambios de pH ya sean a pH ácidos o alcalinos, provocan isomerizaciones de ciertos dobles enlaces, que deben considerarse en la manipulación de pigmentos (**Schwartz, 1998**).

#### **1.4. LAS ANTOCIANINAS.**

Las antocianinas son colorantes naturales inocuos, solubles en agua e insolubles en éter, benceno o cloroformo, sino compuestos iónicos. Su fórmula básica está conformada por dos anillos aromáticos unidos por una estructura de tres carbonos, como se muestra en la **Figura 2 y cuadro 7**.

El color de las antocianinas depende de la cantidad de grupos hidroxilo (OH) y metóxilo (OCH<sub>3</sub>) que se encuentran en el anillo B de cada antocianina (**Zeiger, 2006**), esto se muestra en la **Figura 2**.

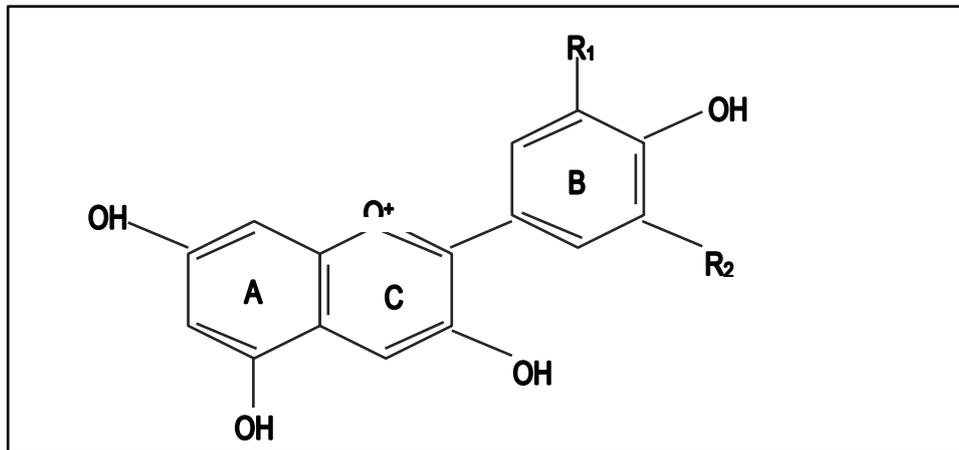
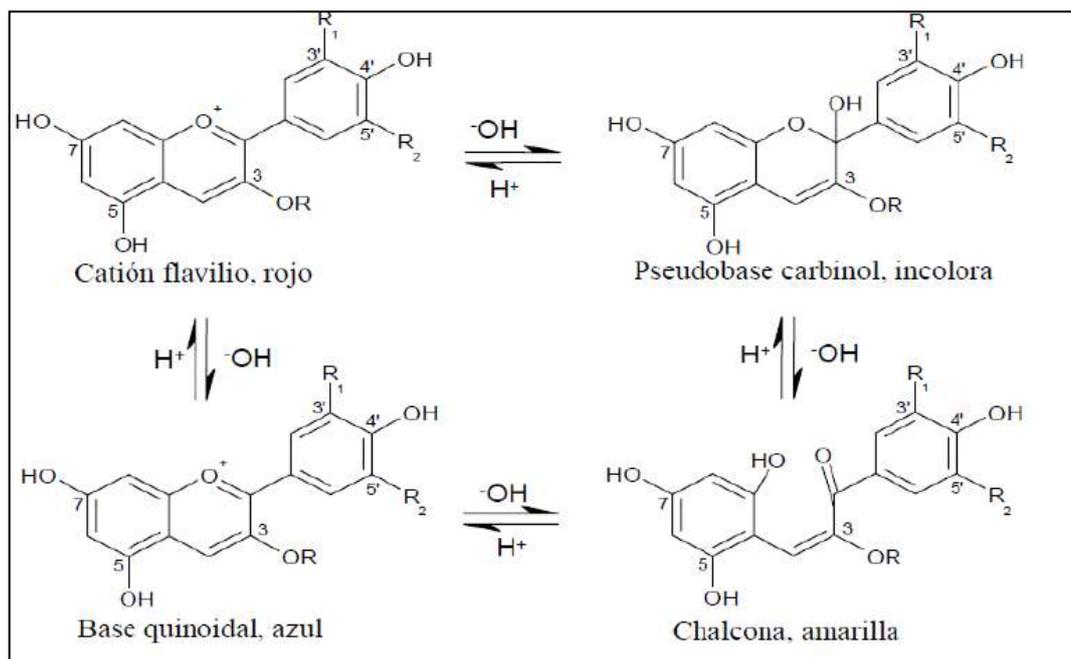


Figura 2 Estructura y sustituyentes de las antocianinas (Durst, R. 2001).

Cuadro 7 Principales radicales de las antocianinas.

Aglicana	Substitución		$\lambda_{\max}(\text{nm})$
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	<b>Espectro Visible</b>
Pelargonidina	H	H	494 (naranja)
Cianidina	OH	H	506 (naranja - rojo)
Delfinidina	OH	OH	508 (azul - rojo)
Peonidina	OCH <sub>3</sub>	H	506 (naranja - rojo)
Petunidina	OCH <sub>3</sub>	OH	508 (azul - rojo)
Malvidina	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	510 (azul - rojo)

Las antocianidinas más importantes son la pelargonidina, la cianidina, la delfinidina, la peonidina, la petunidina y la malvidina. Generalmente una misma antocianidina forma interacciones diferentes clases de carbohidratos para formar diferentes antocianinas (Fennema, 1985).



**Figura 3** Estructuras de las antocianinas en función del pH, donde R son distintos grupos funcionales, siendo uno de ellos la pelargonidina **(Cuevas, 2008)**.

#### **1.4.1. ESTABILIDAD DE LAS ANTOCIANINAS.**

Las antocianinas son compuestos débiles y su estabilidad es muy variable en función a su estructura y la composición en la matriz en la que se encuentran.

La estabilidad se ve afectada por el pH, temperatura de almacenamiento, presencia de enzimas, luz, oxígeno, estructura y concentración de antocianinas y la presencia de otros compuestos totales como flavonoides, proteínas y minerales **Leyva D. (2009)**.

El color de la antocianina depende de varios factores intrínsecos, como los sustituyentes y la posición de estos. Las antocianinas, como se puede observar en la Figura 01, tiene una deficiencia en el núcleo del flavilio, haciendo que estos pigmentos funcionen como indicadores de pH, ya que su color depende de las condiciones de acidez o alcalinidad del sistema en el que se encuentren. Las antocianinas son muy susceptibles a sufrir cambios estructurales en presencia de oxígeno, cambios de pH o la temperatura, exposición a la luz, por vía enzimática, entre otros. Como se mencionó anteriormente, los tratamientos térmicos influyen en gran medida a la descomposición de las antocianinas **Barreiro, (2006)**.

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 **(Garzón, 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.

#### **1.4.2. FACTORES QUE AFECTAN LA ESTRUCTURA DE LAS ANTOCIANINAS.**

El color de las antocianinas se modifica fácilmente por efecto de gran cantidad de reacciones que ocurren en los alimentos y se presenta mayores variaciones durante el almacenamiento debido a su inestabilidad producida por diversos factores como: pH, temperatura, oxígeno, luz, entre otras (**Fossen, et al., 1998**).

La pérdida de color de las antocianinas también se da por la presencia de compuestos reactivos como azúcares reductores, fenoles y aminoácidos (**Zeiger, 2006**). Otra causa de degradación de las antocianinas son las reacciones enzimáticas que se producen en forma natural en los frutos; la enzima  $\beta$ -glucosidasa hidrolizan al enlace glucosídico en el átomo de carbono 3, separando al aglicón del azúcar. Existen enzimas del tipo de las polifenolasas que también pueden causar una decoloración de los frutos. Algunos microorganismos presentan actividad enzimática de antocianasa, capaz de inducir la destrucción de las antocianinas (**Fennema, 2000; Badui, 1988**).

#### **1.4.3. EFECTOS BIOLÓGICOS DE LAS ANTOCIANINAS.**

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 (**Garzón, 2008**).

A las antocianinas también se les atribuye actividad antitumoral y anticancerígena. Hagiwara y col. (2002) demostraron que el suministro de camotes púrpuras dulces y

repollo morado a ratas de laboratorio, causan supresión de tumores. De igual manera, Koide y col. (1997) reportaron efectos antitumorales al usar extractos de frijoles rojos de soya que contenían cianidina conjugada con glucosa y ramnosa.

En cuanto a la actividad anticancerígena, **Kamei y col. (1998)** reportaron la supresión de células cancerígenas HCT-15 provenientes del colon humano y de células cancerígenas gástricas AGS al suministrar fracciones de antocianinas del vino tinto. Así también, Tristan y col. (2005) realizaron bioensayos que demuestran que los arándanos inhiben las etapas de iniciación, promoción y progresión de la carcinogénesis (**Gonzalez, 2013**). Estudios clínicos realizados en Italia revelaron que 79% de los pacientes diabéticos consumidores de extracto de bayas rojas (160 mg dos veces al día durante un mes) mostraron alivio en los síntomas de retinopatía diabética.

Finalmente, el mejoramiento de la agudeza visual y del comportamiento cognitivo como resultado del consumo de antocianinas han sido reportados por Ohgami y col. (2005), quienes suministraron extractos de frutas ricas en antocianinas a ratas con deficiencia ocular, lo cual resultó en un efecto antiinflamatorio y de aumento de la agudeza visual (**Gonzalez, 2013**).

#### **1.4.4. EFECTO DEL pH.**

Las antocianinas son más estables en un medio ácido que en un medio neutro o alcalino. En medio ácido la forma predominante es la del ión flavilio, el cual da el color rojo; cuando ésta es sometida a pH básico o alcalino, el ión flavilio es susceptible al ataque nucleofílico por parte del agua, produciéndose la pseudobase carbinol, esto es a pH 4,5 y seguido se forma la chalcona, las dos formas son incoloras (**Gonzalez, 2013**). Conociendo esto, las antocianinas tienen su máxima expresión de color a valores de pH ácidos (pH 1) y su forma incolora se produce a pH neutros o alcalinos (**Cuevas, 2008**).

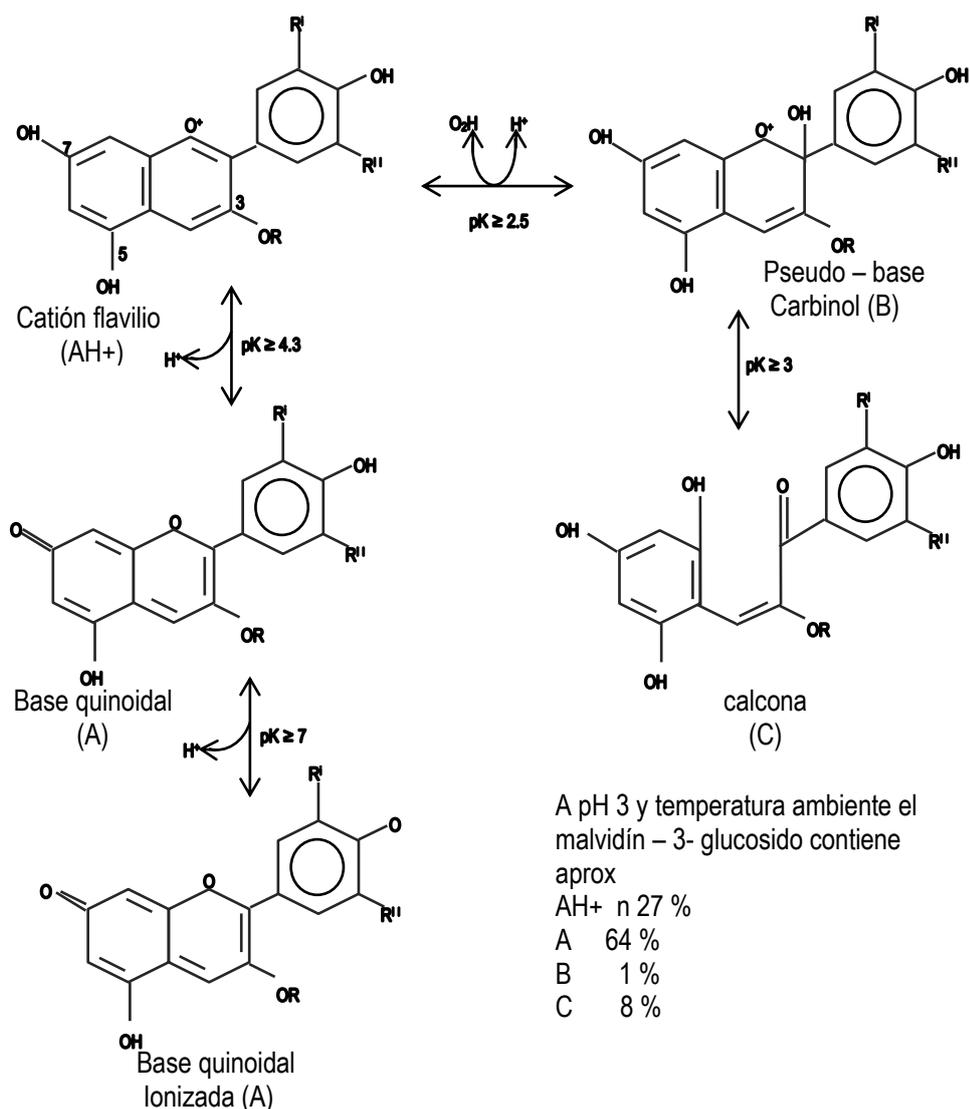
#### 1.4.5. EFECTO DE LA TEMPERATURA.

Las antocianinas son destruidas por el calor durante el procesamiento y almacenamiento. Un incremento logarítmico en la destrucción de las antocianinas ocurre con un incremento en la temperatura. (Timberlake, 1986) observó que el equilibrio entre las estructuras en endotérmico, en una dirección de izquierda a derecha:



A altas temperaturas el equilibrio cambia hacia las chalconas. El retorno de las chalconas al flavilio es lento (Gonzalez, K. 2013).

Las antocianinas, como se muestra en la Fig. 04, son más estables a pH ácido y como justamente éstas son las condiciones de productos tales como bebidas y las condiciones de digestión, se espera en este estudio que no se afecten. A valores ácidos de pH, las antocianinas son muy estables, pero se desestabilizan cuando el pH se acerca a la neutralidad, llegando a descomponerse a valores básicos. Esto explica el que la extracción de antocianinas se realice con solventes neutros (por ejemplo metanol, etilenglicol, n-butanol, acetona) y ácidos orgánicos débiles (ácido fórmico, ácido acético). La adición de agua (10 - 15%) en algunos casos permite una extracción completa dependiendo de la fuente. La purificación es un paso importante, debido a que en la extracción se arrastran otros compuestos que pueden afectar la estabilidad o el análisis del pigmento, ya sea en columnas de amberlita de absorción, en cartuchos tipo C18, entre otros.



**Figura 4** Estructura de las antocianinas a diferentes valores de pH (Coultrate, 1984).

#### 1.4.6. LAS ANTOCIANINAS EN LA ALIMENTACIÓN.

El término antocianina fue propuesto en 1835 por el farmacéutico alemán **Ludwig Clamor Marquart (1804-1881)** para describir el pigmento azul de la col lombarda (*Brassica oleracea*). En realidad, las antocianinas no sólo incluyen a los pigmentos azules de las plantas sino también a los rojos y violetas. El interés por los pigmentos antociánicos se ha intensificado recientemente debido a sus propiedades farmacológicas y terapéuticas. Por lo tanto, además de su papel funcional como

colorante alimenticio, las antocianinas son agentes potenciales en la obtención de productos con valor agregado para el consumo humano.

#### ❖ **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. **Garzón, (2008)**.

#### ❖ **Obesidad**

Un diverso grupo de compuestos fenólicos provenientes de los denominados frutos rojos, tales como flavonoles, elagitaninos y antocianidinas, inhiben las enzimas digestivas  $\alpha$ -glucosidasa,  $\alpha$ -amilasa, proteasa y lipasa, las cuales son terapéuticas para controlar la diabetes mellitus tipo 2 y la obesidad. 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. **(Lfevre, et al., 2006)**.

#### ❖ **Actividad terapéutica.**

Como sucede con otros antioxidantes, no se tiene claro cuál es la dosis óptima de antocianinas recomendadas o si existe riesgo de sobredosis. El consumo de

antocianinas mediante la alimentación es completamente inofensivo, la falta de datos precisos se refiere a los tratamientos con suplemento de dosis elevada.

Aunque en su estructura se han descrito doce diferentes antocianidinas, las más comunes en plantas son: pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina y malvidina.

Por tanto se afirma, que en las plantas las antocianidinas no se acumulan como tal, sino en su forma glucosilada; esto es, unidas a algún azúcar y en cuyo caso se denominan antocianinas. El azúcar presente en la molécula les confiere una gran solubilidad y estabilidad, generalmente se une a la antocianidina en la posición 3 del grupo fenólico, pero puede también hacerlo en las posiciones 5 y 7. Con base en el número de azúcares presentes en su estructura, las antocianinas se clasifican en: monoglucósidos (un azúcar), diglucósidos (dos azúcares) y triglucósidos (tres azúcares). **(Aguilera, et. al., 2011)**

Se identificaron las antocianidinas y sus respectivos porcentajes por HPLC, en el fruto de ***Hesperomeles escalloniifolia Schltl (Capachu)***, la delphinidina 15,6670 %, cianidina 7,1910 %, petunidina 11,9153 %, peonidina 3,6915 % y malvidina 7,8487 %. **(Aroni, 2013).**

Existen varias hipótesis, se propone que el bajo riesgo de la enfermedad coronaria en Francia se asocia con el alto consumo de vino tinto (St. Leger et al., 1979; Xia et al., 1998). De igual manera, Wang y Jiao (2000), así como Wang y Lin (2000) han demostrado que frutos ricos en antocianinas evidencian una alta actividad antioxidante contra la presencia de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) y contra los radicales peróxido (ROO.), superóxido (O<sub>2</sub>), hidroxilo (·OH) y oxígeno singulete (O<sub>2</sub>). Como ejemplo tenemos al fruto de la omija (*Schizandra chinensis*), donde el pigmento consistente

mayoritariamente de Cya-3-O-xylrut explicado como 86%(DPPH) y 98% (ABTS) demostró actividad antioxidante total de extracto acuoso del fruto (Kim *et al.*, 2009). A las antocianinas también se les atribuye actividad antitumoral y anticancerígena (**Aguilera, et. al., 2011**).

#### **1.4.7. DISTRIBUCIÓN**

Las antocianinas son metabolitos secundarios que en el Reino Vegetal se encuentran ampliamente distribuidos en las plantas superiores (especialmente en los frutos y flores de las angiospermas), son las responsables de los colores naranja, rosa, rojo, violeta y azul de los pétalos de flores y frutas, con poca frecuencia son localizadas en plantas hepáticas.

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. (**Mendoza, 2012**)

##### **1.4.7.1. EXTRACCIÓN Y AISLAMIENTO.**

Además de las consideraciones relativas a la estabilidad, debe tenerse en cuenta que el aprovechamiento tecnológico de un producto también depende de su extractabilidad. La extracción de los pigmentos a partir de los tejidos vegetales suele realizarse con solventes orgánicos, Los solventes empleados para el proceso depende de la naturaleza de los pigmentos y su polaridad (**Ibarz, 2005**).

La extracción sólido-líquido, es una operación unitaria básica que consiste en la separación de uno o varios componentes presentes en una fase sólida, para esto se utiliza una fase líquida o un solvente (**Ibarz, 2005**).

Para la extracción de pigmentos a partir de los vegetales, se debe tomar en cuenta las siguientes condiciones:

- El rendimiento o recuperación máxima de los colorantes para un óptimo aprovechamiento de la materia prima.
- Concentración de los extractos, lo que incide en el menor gasto de solvente por unidad de peso de la materia prima. También hay que considerar el ahorro en las operaciones de filtración y concentración.
- Baja o nula toxicidad del solvente empleado, para facilitar la seguridad del personal que participa en el proceso y porque el producto final está destinado para el consumo humano.
- Bajo nivel de extracción de impurezas, o bien, que estas sean de fácil remoción (Quintero, *et al.*, 2002).

#### **1.4.7.2. FACTORES QUE DETERMINAN LA EXTRACCIÓN**

##### **a) Tamaño de partícula**

El tamaño de las partículas influye en la extracción de diferentes maneras, ya que los sólidos de tamaño pequeño tienen una mayor superficie de contacto con el líquido y la distancia de difusión entre el soluto y el solvente es menor por lo tanto la cantidad de soluto transferido es más alto (Ullauri, 2010).

##### **b) Solvente**

El solvente escogido debe ser altamente selectivo, de baja viscosidad que circule libremente (Ibarz, 2005), pero conforme la extracción transcurre, la cantidad de soluto aumentara y el gradiente de concentración disminuye, incrementando progresivamente la viscosidad (Ullauri, 2010).

Generalmente se utiliza etanol para la extracción de los principios activos de las plantas, sin embargo el agua es considerada el solvente universal por su capacidad de extracción en fase sólido-líquido (Ullauri, 2010).

**c) Temperatura**

A medida que se incrementa la temperatura la extracción es mejor pero si el rango de temperatura está entre 70 y 100 °C el rendimiento no aumenta de forma significativa por lo que es más importante encontrar un equilibrio en la cual se reduzca el gasto de energía y el tiempo de extracción (Centeno, 2003).

**d) Tiempo de extracción.**

Es considerado como un factor de menor incidencia en la extracción del colorante, pero a nivel industrial donde se trabaja con grandes volúmenes será un factor muy importante en los costos de operación ya que un largo en el tiempo de producción baja el rentabilidad (Centeno, 2003).

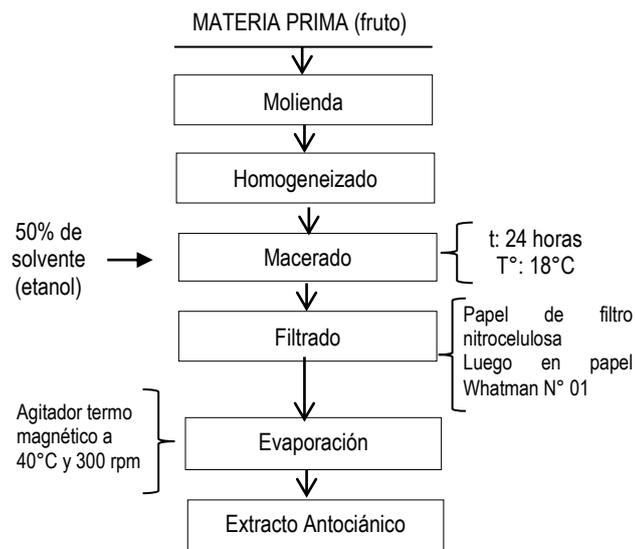
**1.4.7.3. MÉTODO DE EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN DE ANTOCIANINAS.**

La extracción de pigmentos naturales, debe llevarse a cabo teniendo en cuenta los factores que pueden afectar la integridad de los mismos; por lo cual este es un paso muy importante debido a que los resultados obtenidos dependen en gran parte del proceso de extracción realizado.

Las antocianinas son compuestos solubles en solventes polares y comúnmente se extraen de sus fuentes naturales usando metanol o etanol con pocas cantidades de algunos ácidos como ácido clorhídrico, acético y fórmico, ya que el ácido mantiene el pH ácido lo que previene el desplazamiento de los equilibrios químicos de hidratación y formación de chalconas. Adicionalmente el uso de ácidos débiles previene la degradación de las antocianinas no aciladas las cuales presentan mayor labilidad. Sin

embargo, durante el proceso de evaporación del solvente acidificado puede ocurrir degradación de las antocianinas asiladas, por la hidrólisis parcial o total de los ácidos enlazados a los azúcares, especialmente en antocianinas asiladas con ácidos di carboxílicos como el ácido malónico. Por lo anterior se recomienda para la extracción de estos pigmentos el uso de ácidos débiles como el trifluoroacético, tartárico o cítrico (Santa Cruz, 2011).

Aroni, (2013) realizó la extracción utilizando como solvente el HCl con el objetivo de cuantificar las antocianinas mientras Heras, et al., (2013), utiliza como solvente etanol al 50% con fines de aplicación alimentaria siguiendo las operaciones unitarias que se muestran en la figura 5.



**Figura 5** Diagrama de flujo para la extracción de antocianinas.

#### 1.4.8. DETERMINACIÓN CONTENIDO DE ANTOCIANINAS EN BEBIDAS.

La determinación del total de monómeros de antocianinas por el método diferencial de pH descrito por (Giusti y Wrolstad, 2001) y (Poo, 2005). El extracto será diluido con dos buffer (pH 1,0 y pH 4,5). Para poder medir la absorbancia. Con un solo factor de dilución, a las muestras diluidas se les realiza la medición de absorbancia a la longitud

de onda de máxima absorción (520 nm), **(Giusti y Wrolstad, 2001)** y **(Poo, 2005)**. El contenido de pigmentos en el extracto se expresara en mg/100 g.

#### **1.4.9. 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  $\text{kJmol}^{-1}$ . 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  $\text{nm}$  (ultravioleta) o en la región visible de 400-800  $\text{nm}$  **(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.

## 1.5. JUSTIFICACIÓN

El Perú y la región, en su rica y variada geografía cuenta con diversos pisos ecológicos, donde desde tiempos prehistóricos se desarrollan grandes cantidades de especies alimenticias con potenciales de alimentación, nutrición y salud; tal es el caso de fruto silvestre Capachu (*Hesperomeles escalloniifolia* Schlttdl) debido a que contiene antocianinas gracias a la pigmentación natural que posee su pulpa. (Aroni 2013). Por tanto aportan un valor antioxidante, lo cual permiten que las células no sufran oxidación o que se mantengan en equilibrio para los procesos de óxido – reducción que ocurre en forma natural dentro del organismo. Dentro de las propiedades que se asocian principalmente, se encuentran la disminución de enfermedades cardiovasculares y su efecto anticancerígeno.

Las bebidas refrescantes siempre han representado parte de la vida y dieta de la mayoría de las personas, destacando aquellos que tienen un gran potencial nutracéutico. Las bebidas refrescantes y gasificadas se consumen en grandes cantidades en todo el mundo, la producción del sector de bebidas ha mostrado una tendencia creciente durante los últimos años. Solo el sector de bebidas gaseosas ha crecido 0,6 % entre el 2011 y 2012 en los periodos de enero y abril. En términos de valor bruto de producción, el sector de bebidas gaseosas contribuye con el 1,63 % del PBI manufacturero y con 0,26 % del PBI total (<http://es.slideshare.net/crisrm1/bebidas-carbonatadas>).

Por tanto la razón de este proyecto de investigación está vinculado con los pigmentos antociánicos del fruto silvestre mencionado anteriormente, teniendo como objetivo de evaluar la estabilidad del colorante antociánico en una bebida gasificada durante su etapa de almacenamiento, lo cual pretende reducir el consumo de colorantes artificiales aportando así a la tecnología, pero principalmente a la industria alimenticia debido a que

los pigmentos antociánicos pueden ser un sustituto eficaz de los colorantes sintéticos: Rojo N° 40; Rojo N° 3 y Rojo N° 2; brindando así al consumidor final mayor seguridad en los productos que consumen, evitando el incremento de enfermedades neurológicas, cancerígenas, etc.

En la actualidad hay mucho interés mundial en el desarrollo de colorantes naturales, esto se debe, a la necesidad de expansión de la variedad de los colorantes, a la implicancia 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. El mercado de colorantes naturales va en aumento, esto se debe principalmente a la percepción del consumidor que “lo natural es mejor” (**Pszczola, 1998**).

El color es de gran importancia en la presentación de un producto terminado, aunque no aumente sus propiedades funcionales, de gusto ni nutricionales, es uno de los primeros atributos percibido por los sentidos; es el primer contacto que se establece entre el consumidor y el artículo, es una de las características más importantes para la aceptación y selección o rechazo de un bien de consumo (**Chávez, C. 2002**).

Por lo tanto según a lo mencionado anteriormente el proyecto tendrá incidencia positiva en lo tecnológico, social, económico y ambiental, beneficiándose así los productores y comercializadores, como también fortalecer un renglón productivo de importancia estratégica para la producción agrícola forestal de Apurímac, así mismo las conclusiones y recomendaciones finales podrían servir como datos muy importantes para dar origen a proyectos de inversión que contribuyan con el desarrollo socioeconómico de nuestra región al mismo tiempo fomentar la producción del fruto silvestre Capachu con más canales de comercialización.

## 1.6. OBJETIVOS

### 1.6.1. OBJETIVO GENERAL.

Evaluar la estabilidad del colorante antocianico extraído a partir del fruto silvestre Capachu (*Hesperomeles escalloniifolia Schlttdl*) en una bebida gasificada.

### 1.6.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS.

- ❖ Determinar el contenido de antocianinas durante el almacenamiento de una bebida gasificada con colorantes natural extraído a partir del fruto silvestre Capachu.
- ❖ Evaluar el color por absorbancia (nm) durante el almacenamiento de una bebida gasificada con colorantes natural extraído a partir del fruto silvestre Capachu.
- ❖ Evaluar el análisis sensorial (sabor, aroma y sabor) durante el almacenamiento de una bebida gasificada con colorantes natural extraído a partir del fruto silvestre Capachu.

## 1.7. PROBLEMA

¿Cuál es el nivel de influencia en la estabilidad del colorante antocianico extraído a partir del fruto silvestre Capachu (*Hesperomeles escalloniifolia Schlttdl*) durante el almacenamiento de una bebida gasificada?

## 1.8. HIPÓTESIS

- ❖ La estabilidad del colorante antocianico extraído a partir del fruto silvestre Capachu (*Hesperomeles escalloniifolia Schlttdl*) influye significativamente durante el almacenamiento de una bebida gasificada.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

La primera etapa de la investigación se realizó en el laboratorio y área de procesos de la Empresa Embotelladora CHANKA S.R.L. del Distrito de Anco Huallo, Provincia Chincheros, Departamento de Apurímac. La segunda etapa de las pruebas experimentales se desarrolló en el Laboratorio de Química y Control de calidad de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial (EPIA) 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.

### 2.2. POBLACIÓN, MUESTRA Y UNIDAD DE ANÁLISIS

La población fue la bebida gasificada con colorante antociánico del fruto silvestre Capachu (*Hesperomeles escalloniifolia Schlttdl*) elaborada en la empresa Embotelladora CHANKA S.R.L. frutos procedentes del bosque Kankarhuay ubicada en la localidad de Cotahuacho Distrito de Pacucha (2 500 y 4 080 m.s.n.m.), (Reynaga, 2003). Provincia de Andahuaylas de la región de Apurímac. La muestra la conformaron 4 kg de Capachu fresco, lo mismo que ha sido asignado 3,5 kg para la elaboración de la bebida, frutos que se encuentran completamente maduros.

Las unidades de análisis; 300 ml de bebidas gasificadas con colorante antocianico durante el almacenamiento en condiciones de tiempo (días) y temperatura (°C).

### 2.3. EQUIPOS, MATERIALES, REACTIVOS E INSTRUMENTOS DE LABORATORIO

#### 2.3.1. Material Vegetal

**Cuadro 8** Material Vegetal.

MATERIAL VEGETAL		
DESCRIPCIÓN	CANTIDAD	ORIGEN
CAPACHU ( <i>Hesperomeles escalloniifolia Schlttdl</i> )	4 kg	Bosque Kankarhuay distrito de Pacucha

### 2.3.2. Equipos

**Cuadro 9 Equipos**

<b>EQUIPOS</b>	<b>CANTIDAD</b>	<b>MARCA</b>
Espectrofotómetro UV-Visible	01	GENESIS
pH-metro digital	01	INOLAB 730
Refractómetro	01	ATAGO
Estufa (Incubadora), Temperatura máximo 75 °C	03	MEMMERT/INB 400
Refrigeradora	01	INRESA
Balanza digital de precisión Cap. 100 g Sensibilidad 0,01 g	01	ABS 200-4
Centrifuga de 3300 rpm.	01	LW-SCIENTIFIQUE
Analizador de humedad 0,01 %, precisión 0,001 g	01	ADAM
Termómetro digital	03	MULTI-THERMOMETER
Equipo envasadora de bebidas gasificadas	01	BLISSUM
Olla de acero inoxidable	01	LINIO

### 2.3.3. Materiales

**Cuadro 10 Materiales**

<b>MATERIALES</b>	<b>CANTIDAD</b>	<b>MEDIDA</b>	<b>MARCA</b>
Fiolas	05	250 ml	FORTUNA
Gradilla para tubos de ensayo	05	.....	S/M
Picnómetro	01	10ml	GLASSCO
Embudo de vidrio	05	.....	FORTUNA
Balón de vidrio	05	250 ml	FORTUNA
Varilla de vidrio	05	.....	FORTUNA
Espátula de acero inoxidable mango de madera	02	.....	S/M
Matraz Erlenmeyer	05	250 ml	SCHOTT
Mortero con pilón	04	.....	SCHOTT
Pizetas	02	500 ml	S/M
Probetas	05	100 ml	KYNTEL
Vasos precipitados	04	100 ml	FORTUNA
Papel filtro.589/2 (Watman - 40).	08	Ø 11 cm	S&S
Pipetas	05	1 ml	FORTUNA
Pro pipetas	02	.....	D&N

Cubeta de cuarzo	01	4 ml	MRO122
Medidor de CO <sub>2</sub> (ZAHM) modelo D.T.	01	.....	PIERCING DIVECE
Calculador de carbonatación (Volumen de gas)	01	.....	TERRIS
Rotulador	01	.....	FABER- CASTELL
Paleta de madera (tipo cucharon)	1	1,3 m	-----
Botellas de PET de 550 ml	50	310 ml	SAN MIGUEL
Tapas con rosca	50	.....	SAN MIGUEL

#### 2.3.4. Reactivos e insumos

**Cuadro 11** Reactivos e insumos.

REACTIVOS E INSUMOS	CANTIDAD
Ácido cítrico (0,03%)	200 g
Ácido ascórbico	200 g
Agua destilada	3 l
Agua tratada	30 l
Azúcar blanca	2 kg
Aspartame	4,4 g
Acesulfame k	1,4 g
Benzoato de sodio	3,0 g
Ácido Cítrico químicamente puro.	60 ml
Ácido Ascórbico	2 g
Escénica fresa	25 ml
Colorante rojo N° 40	1 g
Sacarina	1 g
Gas industrial (CO <sub>2</sub> )	25 kg

#### 2.4. METODOLOGÍA.

En el presente trabajo de investigación se extrajo el pigmento característico del fruto silvestre Capachu (*Hesperomeles escalloniifolia Schldl*), se formuló una bebida

gasificada y se almacenó a diferentes condiciones de tiempo (días) y temperatura (°C) utilizando un diseño experimental, el de superficie de respuestas: se estudió la estabilidad del colorante antocianico sobre la bebida, para ello se realizó la cuantificación de antocianinas, la variación del color por absorbancia ( $\Delta$  **Abs**) y las características organolépticas de aceptación.

La metodología a utilizarse en el presente trabajo de investigación se desarrolló el proceso de elaboración y su etapa de almacenado;

- a. **RECEPCIÓN:** Se decepcionó el fruto silvestre Capachu, verificando su buen estado, libre de la presencia de mohos o algún otro defecto propio del fruto.
- b. **PESADO:** Se pesó el fruto empleando una balanza.
- c. **SECADO DEL FRUTO SILVESTRE CAPACHU:** Para secar el fruto fue necesario extraer la pepa del fruto y luego llevarla a una estufa a una temperatura de 120 °C hasta alcanzar una humedad de 15 %.
- d. **MOLIENDA:** Después de secar el fruto, se sometió a una molienda empleando un molino de martillo manual, hasta lograr partículas que pacen una malla de 2 mm, permitiendo así una mayor extracción.
- e. **EXTRACCIÓN I:** Para esta extracción, se preparó agua acidulada con alcohol al 50 % a un pH de 3, luego se adicionó el fruto seco molido 8:2 (agua acidulada: fruto seco molido), se puso en contacto el fruto seco + agua acidulada durante 24 horas, a una temperatura ambiente de (18 °C) en constante agitación.
- f. **FILTRACIÓN I:** Luego de haber realizado la primera extracción se prosiguió a filtrar (Extracto I). Se conservó el residuo para realizar la segunda extracción.
- g. **EXTRACCIÓN II:** Se realizó en agua acidulada a un pH de 3 caliente a una temperatura de 80 °C en constante agitación, durante 5 minutos.

- h. **FILTRACIÓN II:** Luego de haber realizado la segunda extracción se procedió al filtrado (extracto II).
- i. **EVAPORACIÓN:** Para evaporar el extracto I y II, se sometió a una temperatura de 40 °C y 300 rpm en agitador magnético, con la finalidad de volatilizar el alcohol y obtener el extracto homogéneo.
- j. **NORMALIZADO:** En esta etapa se añadió al extracto 0,05% de benzoato de sodio luego se mezcló con el jarabe diluido de conservantes, saborizantes y acidulantes, estandarizando los °Brix, pH, sabor y color.
- k. **REPOSO:** Se dejó en reposo por un periodo de 30 minutos a temperatura ambiente.
- l. **ENFRIADO Y CARBONATADO:** Esta etapa consistió en adicionar CO<sub>2</sub> carbonatada a una temperatura de 15 °C.
- m. **ENVASADO Y SELLADO:** Se adicionó el agua carbonatada al jarabe preparado en sus respectivos envases de PET e inmediatamente se selló con tapa rosca.
- n. **ALMACENADO:** El producto final fue almacenado y acondicionado a temperatura de 7 °C; 18 °C y 30 °C.

El diagrama de bloques experimental se detalla en la Fig. 6

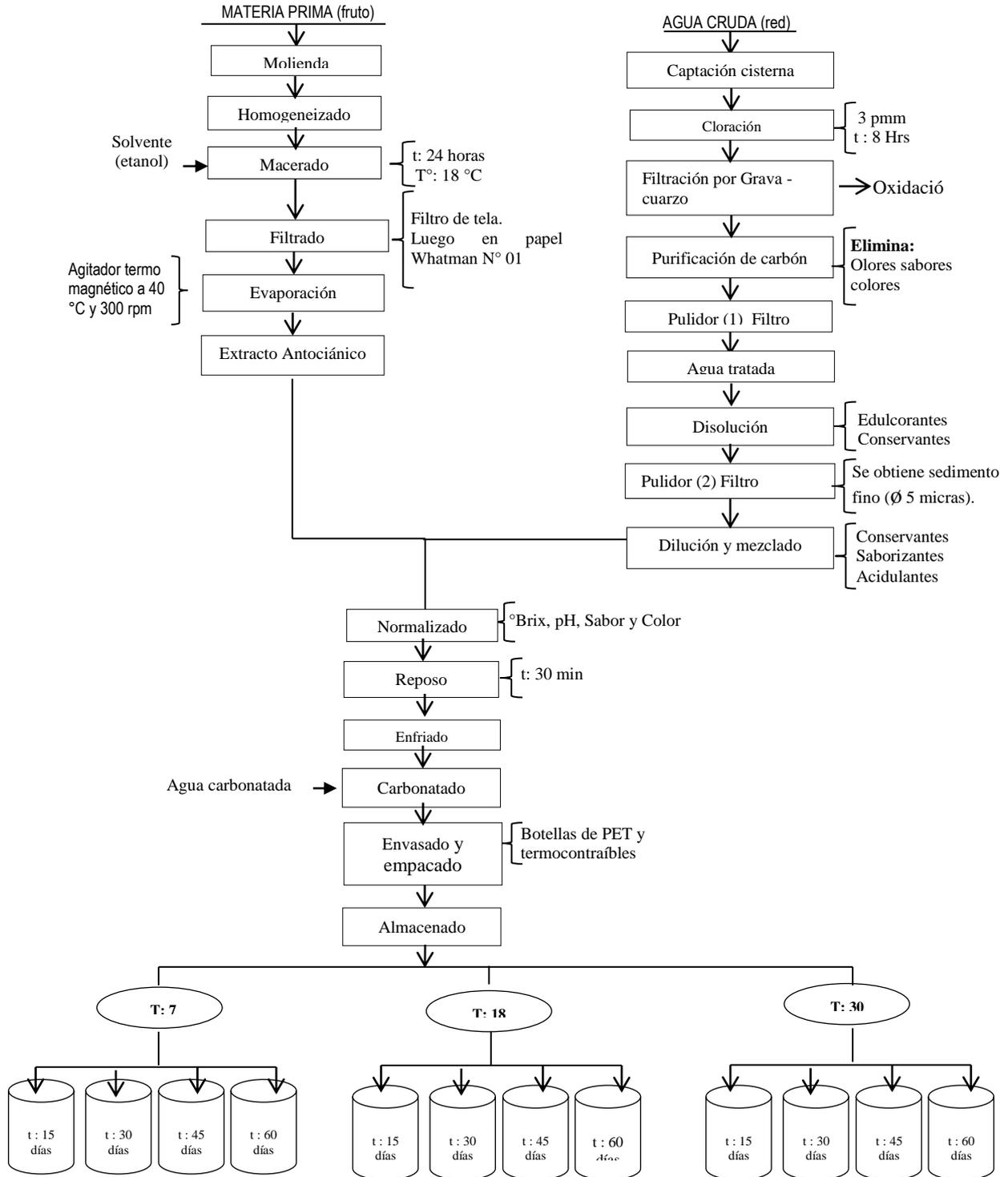


Figura 6 Diagrama de bloques procedimental.

Cabe señalar en algunas de estas etapas se realizaron ensayos con la finalidad de optimizar la bebida las cuales se detallan a continuación.

#### **2.4.1. SELECCIÓN DEL FRUTO SILVESTRE CAPACHU (*Hesperomoles escalloniifolia Schltl*).**

Esta primera etapa permitió identificar, clasificar y seleccionar el tipo de fruto silvestre con la que se trabajó en la presente investigación, tomando en consideración: el tamaño del fruto, estado de madurez, la humedad, la coloración del fruto, que son las características más importantes para la selección, así mismo se tomó en cuenta las características sensoriales óptimas del fruto.

#### **2.4.2. ANÁLISIS FISCOQUÍMICOS DEL FRUTO SILVESTRE CAPACHU (*Hesperomoles escalloniifolia Schltl*).**

##### **2.4.2.1. ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL DE HUMEDAD.**

Se determinó la humedad del fruto fresco y seco, con la siguiente metodología;

**Determinación de la humedad:** método 394.06 (A.O.A.C, 2000).

La descripción de esta metodología se presenta en el **Anexo 14**

#### **2.4.3. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ANTOCIÁNICO DEL FRUTO CAPACHU (*Hesperomoles escalloniifolia Schltl*) PARA LA ELABORACIÓN DE LA BEBIDA GASIFICADA.**

Para la obtención del extracto se emplearon las metodologías propuesto por: **Aroni, (2013)** empleando un proceso de maceración así como **Hears, et al., (2013)** emplea etanol a 50% y **Santa Cruz, (2011)** afirma y recomienda que el ácido cítrico es menos corrosivo y actúa estabilizando la estructura de las antocianinas en forma catiónica por mantener el pH bajo.

El extracto del fruto silvestre Capachu para el presente trabajo se obtuvo en dos etapas, Extracción I y Extracción II mencionados anteriormente, después de haber obtenido el extracto I y II estos se mezclan para obtener el volumen final del extracto.

#### **2.4.4. ENSAYOS PRELIMINARES PARA LA ELABORACIÓN DE LA BEBIDA GASIFICADA A PARTIR DEL EXTRACTO ANTOCIÁNICO CAPACHU (*Hesperomoles escalloniifolia Schldl*).**

Para este ensayo se ha tomado en cuenta las normas generales de **(NTP 214.002:1974 BEBIDAS GASEOSAS)**.

Realizándose las pruebas que permitan establecer los rangos mínimos y máximos para la bebida: acidez, pH, °Brix, presión, densidad.

#### **2.4.5. ESTANDARIZADO DE LA BEBIDA GASIFICADA CON COLORANTE ANTOCIÁNICO.**

En esta etapa ya obtenido el extracto, se añadieron al jarabe antes preparado con aditivos; edulcorantes (azúcar, aspartame y acesulfame k), acidulantes (ácido cítrico), esencias (sabor fresa). **INDECOPI (ex – ITINTEC) 214.001 BEBIDAS GASIFICADAS. JARABEADA Y CODEX ALIMENTARIOS.**

#### **2.4.6. ANÁLISIS FISCOQUÍMICO DURANTE EL ALMACENAMIENTO DE LA BEBIDA GASIFICADA CON COLORANTE ANTOCIÁNICO.**

- **°Brix:** se realizó la medición de los grados °Brix de la bebida, con la ayuda de un refractómetro digital (modelo RHB- 80; Rango 0 - 80 °Brix) método **981.12 AOAC (2000)**. Con el cual se obtuvo un valor de sólidos solubles totales expresados en °Brix. El refractómetro tiene como finalidad medir la cantidad de luz que es refractada por los sólidos en solución expresándola en una escala de 0 a 80. Se calibra el equipo con agua. Cada experiencia se realiza colocando 0,5 ml de la muestra y finalmente se toma la lectura por triplicado.
- **pH:** se efectuó de acuerdo al método **981,12 AOAC, (2000)**. Utilizando el equipo de potenciómetro, (INOLAB 730), previamente calibrado con soluciones buffer de 4,0 y 7,0. Para realizar las mediciones se colocó 10ml de bebida fría en un vaso de

precipitación y se introdujo el electrodo en el líquido, esperando que la lectura sea constante para reportarla, se tomaron lectura por triplicado.

- **Densidad:** se determinó por pesada, método señalada por, **942.06 AOAC (2000)**. Para realizar esta medición de utilizo el picnómetro sin termómetro de 10 ml (**GLASSCO**), por diferencia de peso y la relación de masa sobre volumen.
- **Presión de gas:** Este análisis se realizó en la Empresa Embotelladora Chanka S. R. L. en la provincia e Chincheros departamento Apurímac a través de un manómetro de presión, **AOAC (2000)**. Para determinar la presión de gas carbónico en la bebida se utilizó un equipo Zahm, Modelo D.T. (serie 600), con escala de presión 0-60 psi. Para hacer la medición se perfora la tapa mediante el vástago del equipo y se abre esporádicamente la válvula de escape para que la aguja del manómetro caiga a 0, se sierra inmediatamente la válvula, se agita el envase hasta alcanzar la presión máxima en el manómetro y registrar el valor correspondiente. Finalmente se destapo el envase y se midió la temperatura de la muestra.
- **Temperatura:** se realizó a través de un termómetro digital.
- **Volumen de gas:** para la medición se utilizó ambos datos de presión y temperatura, haciendo una lectura en la tabla de carbonatación presente en la bebida. (INEN, 1 082)

#### **2.4.7. MÉTODO PARA LA EVALUACION DE LA ESTABILIDAD DEL COLORANTE ANTOCIANICO CAHACHU (*Hesperomoles escalloniifolia Schltl*).**

##### **2.4.7.1. 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:

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 separó 60 ml de la bebida gasificada en vasos precipitados de 100ml para luego ser analizada extrayendo todo el gas presente, seguidamente se midió las absorbancias y dichas absorbancias se debe encontrarse por debajo de 0,8 y así cumplir la ley de Beer, para ello las muestras se encontraban por encima de 0,8 lo cual fueron diluidas y 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 520 nm y a 700 nm, 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:

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

Dónde:

$A_{\lambda_{\text{vis-max}}}$  : Lectura del pico más alto a pH 1,0 y pH 4,5

$A_{700\text{nm}}$  : Lectura a 700nm a pH 1,0 y pH 4,5

Se calculó la concentración de antocianinas usando la siguiente formula:

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

Dónde:

**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.

$\epsilon$  : Coeficiente de extinción molar de la Cianidina-3-glucosido ( $26900 \text{ l} * \text{cm}^{-1} * \text{mol}^{-1}$ ).

L : Grosor de la cubeta (1cm).

**REPORTE DE RESULTADOS:**

**Cuadro 12** Reporte de resultados de la cuantificación del total de antocianinas mediante el método del pH diferencial.

CUANTIFICACION DE ANCs (mg/100g)		B: Temperatura °C					
		7		18		30	
		Contenido de Antocianinas (p/p) (mg/g)	ANCs	Contenido de Antocianinas (p/p) (mg/g)	ANCs	Contenido de Antocianinas (p/p) (mg/g)	ANCs
A: tiempo (t)	15		....(mg/100 g)		....(mg/100 g)		....(mg/100 g)
	30		.....(mg/100 g)		....(mg/100 g)		....(mg/100 g)
	45		.....(mg/10g)		....(mg/100 g)		....(mg/100 g)
	60		.....(mg/100 g)		....(mg/100 g)		....(mg/100 g)

$$A = (A_{\lambda_{vis-max}} - A_{700nm})_{pH1.0} - (A_{\lambda_{vis-max}} - A_{700nm})_{H4.5}$$

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

**2.4.7.2. MÉTODO PARA LA EVALUACION DE LA ESTABILIDAD DEL COLOR POR ABSORBANCIA.**

Estos métodos reciben el nombre de MÉTODOS DE ORDENADAS SELECCIONADAS DE HARDY, además Aroni (2013) utiliza este método para evaluar la estabilidad de las antocianinas haciendo lectura por absorbancia a  $\lambda$  520 (nm), según otras fuentes para bebidas gasificadas con colorantes se miden en la misma longitud  $\lambda$ . **Anexo 18**

## FUNDAMENTO

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 el color por absorbancia de la bebida gasificada durante su almacenamiento a diferentes condiciones de tiempo (días) y temperatura (°C).

El método tiene los siguientes pasos:

1. Si la bebida no está limpia, centrifugar previamente. Eliminar el gas carbónico, si es necesario por agitación con vacío parcial.
2. Medir directamente en el espectrofotómetro las absorbancias de la bebida con colorante antociánico para la longitud de onda 520 nm, utilizando como referencia agua destilada, y en cubetas con paredes planoparalelas refiriendo esta medida a un centímetro de espesor de líquido. Las cubetas deben ser de cuarzo.

### 2.4.8. MÉTODOS DE EVALUACIÓN SENSORIAL

Se debe contar con un objetivo para el estudio sensorial bien definido comprensible. Después que se sepa qué hacer, las pruebas sensoriales nos señalaran como hacerlo. Se clasifican en dos grandes grupos, el primero está constituido por pruebas analíticas (laboratorio), el segundo por pruebas efectivas (de consumidor) que se realizan con consumidores (personas no entrenadas en técnicas sensoriales) y en condiciones que no le sean ajenas o extrañas para consumir el alimento en estudio. **Espinoza, (2009)**.

Por lo tanto en la investigación se utilizó el segundo método de pruebas efectivas así como también denominado del tipo de prueba discriminativa (de consumidor) en donde el panelista expresa el nivel de grado, aceptación y preferencia de la bebida gasificada, con pruebas de satisfacción de ESCALA HEDÓNICA.

Con la participación de 17 jueces semis entrenados para esta pruebas sencilla **Carpenter, et al., (2009)**.

**Cuadro 13** Escala Hedónica para la determinación de los atributos (Sabor, Aroma y Color).

Valor	Atributo: Sabor, Aroma y Color
1	Muy agradable
2	Agradable
3	Poco agradable
4	Nada agradable
5	Desagradable

Fuente: (Espinoza, 2009)

#### 2.4.9. METODOLOGÍA DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

##### DISEÑO FACTORIAL CON DOS FACTORES

Considere los factores A y B con a y b ( $a, b \geq 2$ ) niveles de prueba, respectivamente.

Con ellos se puede construir el arreglo o diseño factorial  $a \times b$ , el cual consiste en  $a \times b$  tratamientos. Algunos casos particulares de uso frecuente son: el factorial  $2^2$ , el factorial  $3^2$  y el factorial  $3 \times 2$ . Se llama réplica a cada corrida completa del arreglo factorial. Los diseños factoriales que involucran menos de cuatro factores por lo regular se corren replicadas para tener la potencia necesaria en las pruebas estadísticas sobre los efectos de interés. Si se hacen n réplicas, el número total de corridas experimentales es  $n(a \times b)$  **(Gutiérrez, 2008)**.

En el presente trabajo de investigación, se utilizó un diseño experimental del tipo factorial A x B con dos factores, el primer factor de estudio la temperatura de almacenamiento con tres niveles de variación (7; 18 y 30 °C) y el segundo es el tiempo de almacenamiento con 4 niveles de variación (15; 30; 45 y 60 días), siendo 12 tratamientos cada uno con tres repeticiones y en total 36 unidades experimentales **(Kuehl, 2001)**.

**Temperatura;** La selección de los niveles de temperatura se dio según a los criterios que continuación se mencionaran:

- ❖ **7°C:** *Arrazola, et al., (2013)* en su investigación almacena su bebida a 4 °C lo cual tuvo mejores resultados y *Almeida, (2012)* en su investigación concluye que el colorante de antocianinas a 10 °C permanece estable. Por tanto se determinó el promedio, resultando el valor de 7 °C.
- ❖ **18°C:** Considerando la temperatura de ambiente, en la cual un alimento de consumo directo está expuesto, por tanto este valor se determinó con un termómetro en el lugar de almacenamiento, se hizo la medición en la mañana (17,2°C), al medio día (19,6 °C) y por la tarde (17,7). Por tanto el promedio de resultado fue (18,16°C).
- ❖ **30°C:** Temperatura en la cual, un producto como la gaseosa es generalmente distribuido y consumido.

**Tiempo;** La selección de los niveles de tiempo se dio según a los criterios que a continuación se mencionaran:

- ❖ **Cada 15 días, durante dos meses:** Según datos preliminares desarrollados anteriormente, se evaluó la bebida por 6 meses, de tal forma iniciando su alteración a partir de 15 días a temperatura ambiente. **Anexo 2**, Además *Aroni, (2013)*. Menciona en su investigación que el fruto **Capachu (*Hesperomeles escalloniifolia Schldl*)** después de evaluar la estabilidad durante 30 días 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%. Por tanto en esta investigación se desarrolló con un diseño experimental del tipo factorial **A x B** con 3 repeticiones cada tratamiento:

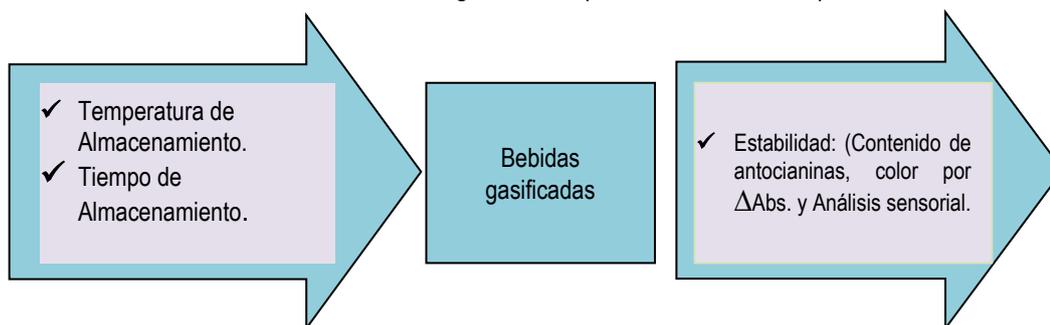
#### **A. Factores de Estudio:**

1. Temperatura de almacenamiento de la bebida con 3 niveles (7; 18; 30 °C).

2. Tiempo de almacenamiento de la bebida con 4 niveles (15; 30; 45; 60 días).

**B. Variables de respuesta:**

1. Contenido de antocianinas en la bebida gasificada (contenido antociánico en mg/100 g).
2. Evaluación del color por absorbancia ( $\lambda = 520 \text{ nm}$ )
3. Análisis sensorial de la bebida gasificada (sabor, aroma, color).



**Figura 7** Diagrama de contrastación y variables.

Para el análisis de los resultados se utilizó el software estadísticos STATGRAPHICS Centurión versión XVI.II. Prueba de rangos múltiples (LSD) y análisis de varianza (ANOVA).

**Cuadro 14** Matriz de diseño experimental.

N° Tratamiento	Temperatura de almacenamiento (°C)	Tiempo de almacenamiento (días)	Estabilidad de antocianinas		
			Contenido de ANCs (mg/100g)	Evolución del color por (Abs: $\lambda = 520 \text{ nm}$ )	Análisis sensorial (sabor)
1	7	15			
2	17	15			
3	30	15			
4	7	30			
5	17	30			
6	30	30			
7	7	45			
8	17	45			
9	30	45			
10	7	60			
11	17	60			
12	30	60			

El modelo estadístico para el diseño 3x4 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:  $i = 1, 2, 3; j = 1, 2, 3; k = 1, \dots, n$ .

Dónde:

$\mu$  : Media general.

$\gamma_i$  : Efecto del factor A con su nivel i.

$\delta_j$  : Efecto del factor B con su nivel j.

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

$\varepsilon_{ijk}$  : 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.

### HIPÓTESIS EXPERIMENTALES:

Por lo cual se estimó las siguientes hipótesis para los tres efectos sobre la estabilidad de antocianinas presentes en los frutos: Temperatura de Almacenamiento ( $T^\circ$ ), Tiempo de almacenamiento (t) y la interacción % EA. –  $T^\circ$  – t

**$H_0$**  : Influencia de la  **$T^\circ$  de almacenamiento** = 0  $\rightarrow$  La  $T^\circ$  de almacenamiento no influye en la estabilidad del colorante antociánico extraído a partir del fruto silvestre, en una bebida gasificada.

**$H_A$**  : Influencia de  **$T^\circ$  de almacenamiento** > 0  $\rightarrow$  la  $T^\circ$  de almacenamiento influye significativamente en la estabilidad del colorante antociánico extraído a partir del fruto silvestre, en una bebida gasificada.

**$H_0$**  : Influencia de la **t de almacenamiento** = 0  $\rightarrow$  La t de almacenamiento no influye en la estabilidad del colorante antociánico extraído a partir del fruto silvestre, en una bebida gasificada.

$H_A$  : Influencia de **t de almacenamiento**  $> 0 \rightarrow$  la t de almacenamiento influye significativamente en la estabilidad del colorante antociánico extraído a partir del fruto silvestre, en una bebida gasificada.

$H_0$  : Influencia  $T^\circ \times t = 0 \rightarrow$  La interacción  $T^\circ \times t$  no influye en la estabilidad del colorante antociánico extraído a partir del fruto silvestre, en una bebida gasificada.

$H_A$  : Influencia  $T^\circ \times t > 0 \rightarrow$  La interacción  $T^\circ \times t$  influyen significativamente en la estabilidad del colorante antociánico extraído a partir del fruto silvestre, en una bebida gasificada.

Estas hipótesis se probaron con el ANOVA; para ello, la suma de los cuadrados para los tres efectos incluidos en la ecuación 03, está dada por:

$$SC_A = \sum_{i=1}^3 \frac{Y_{i..}^2}{3n} - \frac{Y_{...}^2}{n3^2} \dots \dots \dots Ec 03$$

$$SC_B = \sum_{j=1}^3 \frac{Y_{.j.}^2}{3n} - \frac{Y_{...}^2}{n3^2} \dots \dots \dots Ec 04$$

$$SC_C = \sum_{j=1}^3 \frac{Y_{.j.}^2}{3n} - \frac{Y_{...}^2}{n3^2} \dots \dots \dots Ec 04$$

$$SC_{ABC} = \sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 \sum_{k=1}^3 \frac{Y_{ijk}^2}{n} - \frac{Y_{...}^2}{n3^2} - SC_A - SC_B - SC_C \dots \dots Ec 05$$

La suma de los cuadrados se obtiene:

$$SC_T = \sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 \sum_{k=1}^n Y_{ijk}^2 - \frac{Y_{...}^2}{n3^2} \dots \dots \dots Ec 06.$$

#### 2.4.10. TRATAMIENTOS DE ESTUDIO PARA LA EVALUACION SENSORIAL

En el cuadro siguiente se muestran los tratamientos de la evaluación sensorial de los atributos: Sabor, Aroma, Color en la bebida gasificada con colorante antociánico de Capachu durante el almacenamiento, en la cual se evaluaron si existen diferencias entre los tratamientos.

**Cuadro 15** Tratamientos de la investigación.

Tratamientos (Estabilidad del Colorante Antociánico)		
T1 :	Almacenado a T° de 7 °C	en un Tiempo de 15 Días
T2 :	Almacenado a T° de 18 °C	en un Tiempo de 15 Días
T3 :	Almacenado a T° de 30 °C	en un Tiempo de 15 Días
T4 :	Almacenado a T° de 7 °C	en un Tiempo de 30 Días
T5 :	Almacenado a T° de 18 °C	en un Tiempo de 30 Días
T6 :	Almacenado a T° de 30 °C	en un Tiempo de 30 Días
T7 :	Almacenado a T° de 7 °C	en un Tiempo de 45 Días
T8 :	Almacenado a T° de 18 °C	en un Tiempo de 45 Días
T9 :	Almacenado a T° de 30 °C	en un Tiempo de 45 Días
T10 :	Almacenado a T° de 7 °C	en un Tiempo de 60 Días
T11 :	Almacenado a T° de 18 °C	en un Tiempo de 60 Días
T12 :	Almacenado a T° de 30 °C	en un Tiempo de 60 Días

### **PRUEBA DE HIPOTESIS**

- La bebida gasificada con colorante antociánico Capachu no presenta diferencias significativas en las características organolépticas entre tratamientos.  $H_0 = T1 = \dots = T12$
- La bebida gasificada con colorante antociánico Capachu presenta diferencias significativas en las características organolépticas entre tratamientos.  $H_a = T1 = \dots = T12$

### **ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA)**

El análisis de varianza es una técnica estadística que, con base en el principio de t de estudent, permite estudiar si existe diferencia significativa entre la media de las calificaciones asignadas a más de dos muestras. Esta técnica puede desarrollarse para explicar, en diversos niveles, el comportamiento de los datos propios de un experimento.

**(Espinoza, 2009).**

### III. RESULTADOS

#### 3.1. RESULTADOS DE LA SELECCIÓN DEL FRUTO SILVESTRE CAPACHU (*Hesperomoles escalloniifolia Schldl*).

Para la presente investigación fue necesario seleccionar el fruto tomando en consideración: el tamaño del fruto, estado de madurez, la coloración del fruto, que son las características más importantes para la selección así mismo se tomó en cuenta las características sensoriales óptimas del fruto.

**Cuadro 16** Características biométricas del fruto silvestre Capachu.

Descripción			
Fruto	X	±	S
Peso por unidad (g)	0,125	±	0,002
Diámetro (mm)	4,950	±	0,125

**Cuadro 17** Composición de pulpa, semilla, y cascara en 100g de fruto.

Descripción	Porcentaje ±
Pulpa	62,50 ± 0,148
Semilla	37,50 ± 0,160
Total	100,000

**Cuadro 18** Características organolépticas del fruto.

Atributos del fruto	Descripción
Color	guindo oscuro
Sabor	Acido
Aroma	Característico a la fresa

En los cuadros anteriores se presentan el promedio de los 10 representativos ± más la desviación estándar.

#### 3.2. RESULTADOS DEL ANÁLISIS FISCOQUÍMICOS DEL FRUTO SILVESTRE CAPACHU (*Hesperomoles escalloniifolia Schldl*) FRESCO.

## ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL DE HUMEDAD.

Los resultados de los análisis fisicoquímicos proximales, se reportan en los cuadros 19 y 20, respectivamente.

**Cuadro 19** Características fisicoquímica proximal en 100 g del fruto silvestre Capachu.

Componentes	Contenido (%)
Humedad (fruto fresco)	84,05 ± 0,35
Humedad (fruto seco)	15,95 ± 0,25

**Cuadro 20** Características fisicoquímica del fruto silvestre Capachu fresco.

Análisis	Valor (X ± S)
Antocianinas manométrica (mg Cianidina -3-glucósido / ml)	1557,23 ± 1,56
solidos solubles (°Brix)	8,43 ± 0,33
pH	2,06 ± 0,03

### 3.3. RESULTADOS DEL EXTRACTO ANTOCIÁNICO DEL FRUTO CAPACHU PARA LA ELABORACION DE LA BEBIDA GASIFICADA.

Para la extracción del extracto se empleó criterio propuestos por: **Hears, et al., (2013)** empleando etanol a 50%, **Santa Cruz, (2011)** recomienda que el ácido cítrico es menos corrosivo y actúa estabilizando la estructura de las antocianinas en forma catiónica por mantener el pH bajo, a continuación se reportan en el cuadro 21.

**Cuadro 21** Reactivos para la extracción para 125 g de fruto seco (15 % H) molido.

Reactivos	Cantidad	
	Extracción I	extracción II
Agua destilada (ml)	200,0	200,0
Ácido Cítrico Puro (g)	0,5	0,5
Alcohol 50% (ml)	8,0	0,0
Extracto antociánico (ml)	400	

El extracto del fruto silvestre Capachu para el presente trabajo se obtuvo en dos etapas, Extracción I y Extracción II mencionados anteriormente, después de haber obtenido el extracto I y II estos se mezclan para obtener el volumen final 400 ml del extracto.

### 3.4. RESULTADOS DE CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE LA BEBIDA GASIFICADA CON COLORANTE ANTOCIÁNICO ANTES DEL ALMACENADO.

Se estandarizó la bebida gasificada con las siguientes características que se muestran a continuación.

**Cuadro 22** Características fisicoquímicas del producto bebida gasificada con colorante antociánico inicial.

Análisis	Valor (X ± S)
Contenido de ANCs (mg/100g)	1343,142 ± 0,512
Temperatura (°C)	15,3 ± 0,082
Sólidos solubles (°Brix)	6,37 ± 0,094
Acidez total (g ácido cítrico /100 ml)	024 ± 0,016
pH	3,45 ± 0,005
Densidad (g/ml)	1,034 ± 0,001
Presión de gas (Psi) (kg/cm <sup>2</sup> )	26 ± 0,816

Según las especificaciones técnicas de INDECOPI (ex – ITINTEC) 214.001 BEBIDAS GASIFICADAS. JARABEADA Y CODEX ALIMENTARIOS.

### 3.5. RESULTADOS DE ANTOCIANINAS PRESENTES EN LA BEBIDA GASIFICADA CON COLORANTE ANTOCIÁNICO CAPACHU ANTES DEL ALMACENADO.

En el cuadro 23 y 24, se presentan los datos iniciales en que se comprueba la absorbancia en diferentes pH y diferentes longitudes de onda (nm) y el contenido de antocianinas (mg/ 100 g) presentes en su etapa inicial de bebida gasificada elaborada con colorante actociánico del fruto silvestre Capachu.

**Cuadro 23** Resultados del cálculo de la absorbancia para determinar el contenido antociánico en la bebida gasificada.

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	
bebida gasificada con colorante antociánico Capachu	0,687±0.01	0,012±0.00	0,265±0.02	0,006±0.01	0,416

X: Promedio de 3 repeticiones

S: Desviación estándar

**Cuadro 24** Resultado del contenido antociánico presentes en la bebida gasificada inicial.

MUESTRA	Datos:	Valor	Unidad	Contenido de ANCs (mg/100g)
BEBIDA	A= Absorbancia de la muestra			1343,142
	MW= Peso molecular de la Cianidina-3-glucósido	449,9	g/mol	
	DF=Factor de dilución	2.333		
	V= Volumen final	15000	L	
	Wt= Peso de la muestra	125	g	
	E= Absortividad molar de la Cianidina-3-glucósido	26900	L/cm*mol	
	L = Espesor de la cubeta	1	cm	

**Interpretación:** En cuadro 23 se muestra el promedio de los valores de absorbancia de la bebida gasificada con colorante antociánico Capachu (*Hesperomeles escalloniifolia Schltidl*) 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= 0.416**, en el cuadro 24 se muestra el promedio cálculo del contenido total de antocianinas de Capachu (*Hesperomeles escalloniifolia Schltidl*) que es de **1343,142 mg/100g**, quiere decir que en 100 gramos de bebida gasificada podemos encontrar **1343,142** miligramos de antocianina.

**Cuadro 25** Resultado de la absorbancia a 520 (nm) de longitud de onda en la bebida gasificada inicial para la evaluación del color.

Bebida gasificada con colorante antocianico Capachu	(Abs 520 nm)	
	X ± S	
	1,076	± 0,002

### 3.6. RESULTADOS DE CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DURANTE EL ALMACENAMIENTO DE LA BEBIDA GASIFICADA CON COLORANTE ANTOCIÁNICO CAPACHU.

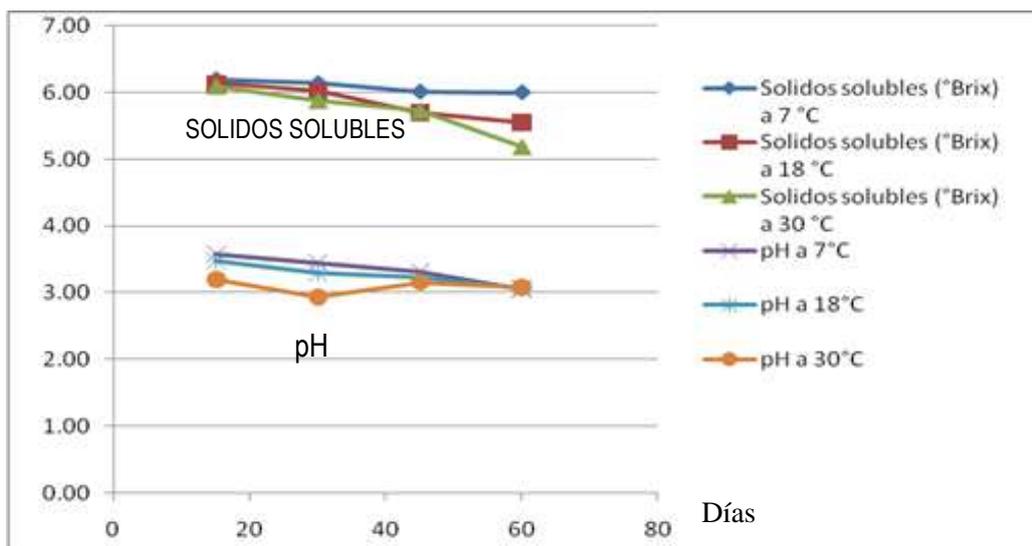
**Cuadro 26** Comparación de datos evaluados de las características fisicoquímicas del producto durante el almacenamiento.

Tratamientos	Solidos solubles (°Brix)		pH		Densidad (g/ml)		Presión de gas (Psi) (kg/cm <sup>2</sup> )	
	X ± S	S	X ± S	S	X ± S	S	X ± S	S
T 1 (7°C, 15 días)	6,19	0,009	3,50	0,082	1,035	0,001	25	0,816
T 4 (7 °C, 30 días)	6,13	0,028	3,58	0,059	1,034	0,000	26	0,816
T 7 (7 °C, 45 días)	6,09	0,009	3,05	0,078	1,036	0,001	24	0,816
T 10 (7 °C, 60 días)	6,07	0,012	3,07	0,008	1,034	0,000	26	0,816
T 2 (18°C, 15 días)	5,93	0,047	3,03	0,015	1,033	0,003	27	0,816
T 5 (18 °C, 30 días)	5,51	0,008	2,71	0,016	1,035	0,000	23	0,471
T 8 (18°C, 45 días)	6,01	0,008	3,70	0,216	1,033	0,000	24	0,471
T 1 (18 °C, 60 días)	5,27	0,353	3,39	0,222	1,032	0,002	27	0,816
T 3 (30°C, 15 días)	5,27	0,466	3,27	0,338	1,034	0,000	22	0,816
T 6 (30 °C, 30 días)	6,00	0,000	3,06	0,005	1,032	0,007	21	0,816
T 9 (30 °C, 45 días)	5,00	0,082	3,07	0,005	1,031	0,008	30	0,491
T 12 (30 °C, 60 días)	5,03	0,047	3,09	0,005	1,033	0,003	22	0,816

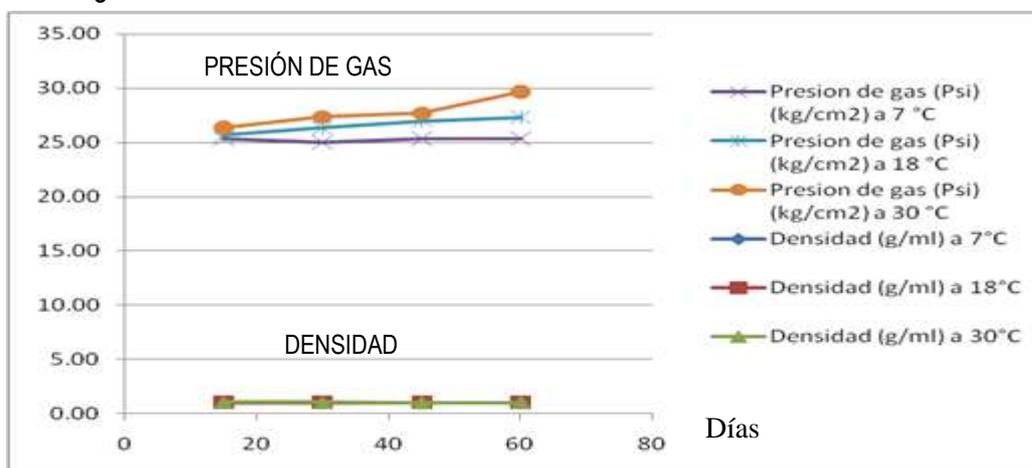
X: Promedio de 3 repeticiones

S: Desviación estándar

En el cuadro 26 anterior se presenta el promedio y desviación estándar de los datos analizados por triplicado durante el almacenamiento de bebida gasificada con colorante antocianico como fue el producto de investigación.



**Figura 8** Representación gráfica de la variación de sólidos solubles (°Brix) y pH en la bebida gasificada con colorante antociánico.



**Figura 9** Representación gráfica de la variación de presión y densidad en la bebida gasificada con colorante antociánico.

### 3.7. RESULTADOS DE LA ESTABILIDAD DEL COLORANTE ANTOCIÁNICO CAPACHU DURANTE EL ALMACENAMIENTO DE UNA BEBIDA GASIFICADA.

Se determinó la cuantificación del contenido total de antocianinas para cada uno del tratamiento expresado en miligramos de antocianina en 100 gramos de bebida, seguidamente la lectura de la absorbancia (nm) y por último el análisis sensorial.

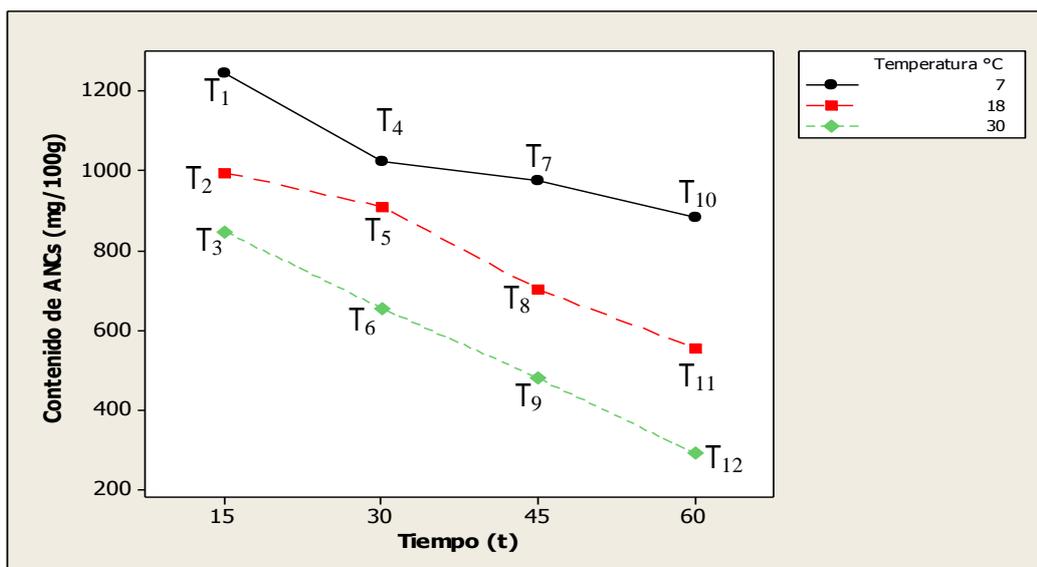
**3.7.1. CUANTIFICACIÓN TOTAL DE ANTOCIANINAS MEDIANTE EL MÉTODO DEL pH DIFERENCIAL.**

**Cuadro 27** Resultados de la cuantificación del total de antocianinas presentes en la bebida gasificada durante el almacenamiento.

CUANTIFICACIÓN DE ANCs (mg/100g)		B: Temperatura °C					
		7		18		30	
		contenido de ANCs	Promedio	contenido de ANCs	Promedio	contenido de ANCs	Promedio
A: tiempo (días)	15	1265,251	1290.207	943.323	994.482	812.306	847.244
		1295,198		1044.394		860.970	
		1306,428		995.730		868.456	
	30	921,074	1023.251	924.607	910.881	733.696	655.086
		1093,057		902.146		703.749	
		1055,624		905.890		527.812	
	45	882,562	975,624	685.032	702.501	411.768	479.148
		1040,650		733.696		509.095	
		1003,217		688.776		516.582	
	60	789.492	882.064	550.272	555.263	247.061	290.733
		924.607		531.555		318.184	
		932.093		583.962		306.954	

**Cuadro 28** Resumen de los resultados de la cuantificación del total de antocianinas presentes en la bebida gasificada durante el almacenamiento.

Tratamientos	Almacenamiento		Contenido de ANCs (mg/100g)	%
	Temperatura °C	Tiempo (t)		
T1	7	15	1290,207	12,902
T2	18	15	994,482	9,945
T3	30	15	847,244	8,472
T4	7	30	1023,251	10,233
T5	18	30	910.881	9,109
T6	30	30	655,086	6,551
T7	7	45	975,476	9,755
T8	18	45	702,501	7,025
T9	30	45	479,148	4,791
T10	7	60	882,064	8,821
T11	18	60	555,263	5,553
T12	30	60	290,733	2,907



**Figura 10** Variación del contenido Antociánico (mg / 100g) en la bebida gasificada con colorante antociánico durante el almacenamiento, a diferentes condiciones de Tiempo (días) y Temperatura (°C).

**Fuente:** elaboración propia, Minitab 15

**Interpretación:** En el cuadro 28 se muestra los promedios cálculo del contenido total de antocianinas de Capachu (*Hesperomeles escalloniifolia Schldl*) en mg /100 g, quiere decir que en 100 gramos de bebida gasificada del tratamiento uno (T1) almacenado a temperatura de 7° C en un tiempo de 15 días se calculó 1290,107 miligramos de antocianina, del (T2) almacenado a 18 °C durante 15 días 994,482 miligramos de antocianina, del (T3) almacenados a 30 °C durante 15 días 847,244 miligramos de antocianina, hasta un (T12) almacenado a 30 °C durante los 60 días 290,733 miligramos de antocianina. Esto implica que a diferentes temperaturas presentan una variación mínima y máxima lo cual se detallara a continuación.

En la figura 10 se indica el descenso del contenido antociánico de los 12 tratamientos y se comprueba el comportamiento durante los 60 días de almacenada la bebida a

temperatura de 30 °C, tiene una inclinación abismal, lo cual descarta una proyección alargada de estabilidad en la bebida gasificada con colorante antociánico.

**Cuadro 29** Resultados del cálculo de la variación del contenido antociánico ( $\Delta$  ANCs) y el porcentaje de la variación en cada 15 días de su evaluación.

Tratamientos	Contenido de ANCs (mg/100g)			Promedio	$\Delta$ ANCs)	% ( $\Delta$ ANCs)
	R1	R2	R3			
T 1 (7°C, 15 días)	1290,207	1295,198	1310,428	1290,107	361,704	29
T 4 (7 °C, 30 días)	921,074	1093,057	1055,624	1023,251		
T 7 (7 °C, 45 días)	882,562	1040,650	1003,217	975,476		
T 10 (7 °C, 60 días)	789,492	924,607	932,093	882,064		
T 2 (18°C, 15 días)	943,323	1044,394	995,730	994,482	439,219	44
T 5 (18 °C, 30 días)	924,607	902,146	905,890	910,881		
T 8 (18°C, 45 días)	685,032	733,696	688,776	702,501		
T 11 (18 °C, 60 días)	550,272	531,555	583,962	555,263		
T 3 (30°C, 15 días)	812,306	860,970	868,456	847,244	556,511	65
T 6 (30 °C, 30 días)	882,562	1040,650	1003,217	975,476		
T 9 (30 °C, 45 días)	411,768	509,095	516,582	479,148		
T 12 (30 °C, 60 días)	247,061	318,184	306,954	290,733		

Como se puede apreciar en el cuadro 29 de los resultados de variación, el contenido de antocianinas a temperaturas de 7 °C y 18 °C se mantiene estable con una mínima variación de 29 % y 44 % respectivamente, a diferencia de la temperatura 30 °C que la variación es muy alta en un 65 %, entonces la bebida gasificada con colorante antociánico Capachu es estable a temperaturas bajas como 7 °C y 18 °C, lo cual puede ser almacenada a un periodo mayor.

**ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DE LA VARIACIÓN DEL CONTENIDO DE ANCs (mg/100 g) EN LA BEBIDA GASIFICADA CON COLORANTE ANTOCIÁNICO CON NIVEL DE SIGNIFICANCIA ( $\alpha = 0,05$ ).**

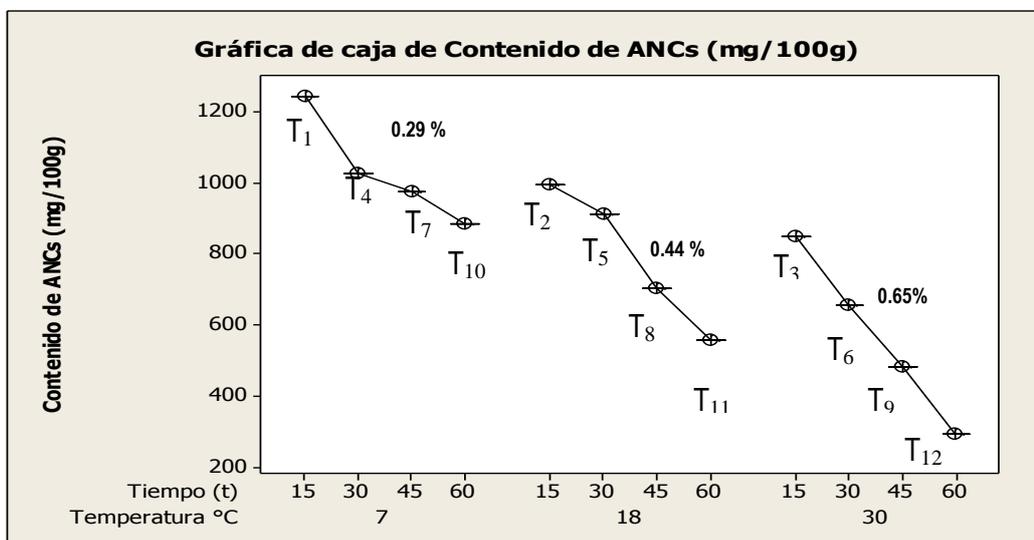
**Cuadro 30** Análisis de varianza (ANOVA) para el contenido antociánico ( $\Delta$  ANCs), a diferentes condiciones de Tiempo (días) y temperatura (T °C) de almacenamiento.

FUENTE DE VARIACIÓN	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Temperatura °C	1287320,000	2	643660,000	144,200	0,000
B:Tiempo _t_	1015800,000	3	338599,000	75,860	0,000
INTERACCIONES					
AB	64528,700	6	10754,800	2,410	0,000
RESIDUOS	107126,000	24	4463,570		
TOTAL (CORREGIDO)	2,474	35			

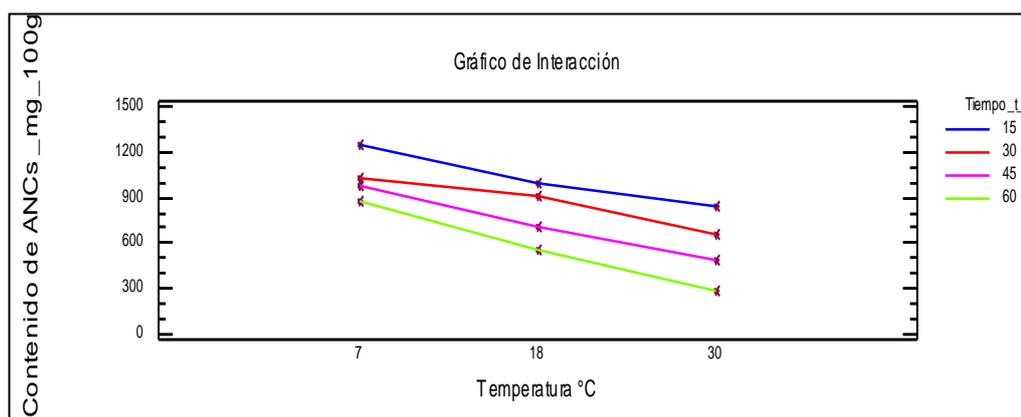
\* Evaluados  $\alpha=0,05$

**Fuente:** Elaboración propia, Statgraphics Centurio XVI.II

**Interpretación:** El P-valor para Temperatura (T °C) y el P-valor para Tiempo (días), así como su interacción es menor a 0,05; entonces si existe una diferencia estadísticamente significativa, por lo tanto podemos decir que si influyen en la estabilidad de las antocianinas presentes en la bebida gasificada con colorante antocianínico del fruto Capachu (*Hesperomeles escalloniifolia Schtdl*), con un nivel del 95,0 % de confiabilidad, por tanto se rechaza la hipótesis nula ( $H_0$ ) y se acepta la ( $H_a$ ).



**Figura 11** Resumen de la variación del contenido antocianínico (mg/ 100g) en la bebida gasificada con colorante antocianínico durante el almacenamiento.



**Figura 12** Interacción del tiempo (días) y Temperatura (°C) del contenido antociánico (mg/ 100g) en la bebida gasificada con colorante antociánico durante el almacenamiento.

### COMPARACIÓN O PRUEBAS DE RANGO MÚLTIPLE.

Con la prueba de rangos múltiples LSD (Diferencia Mínima significativa) al 5% en el cuadro 31, se determinó que las bebidas almacenadas en Tiempos de 60 y 45 días sufrieron una mayor degradación del contenido antociánico ubicándose en el rango estadístico X.

En este caso el tiempo influye estadísticamente en la estabilidad de la bebida gasificada con colorante antociánico.

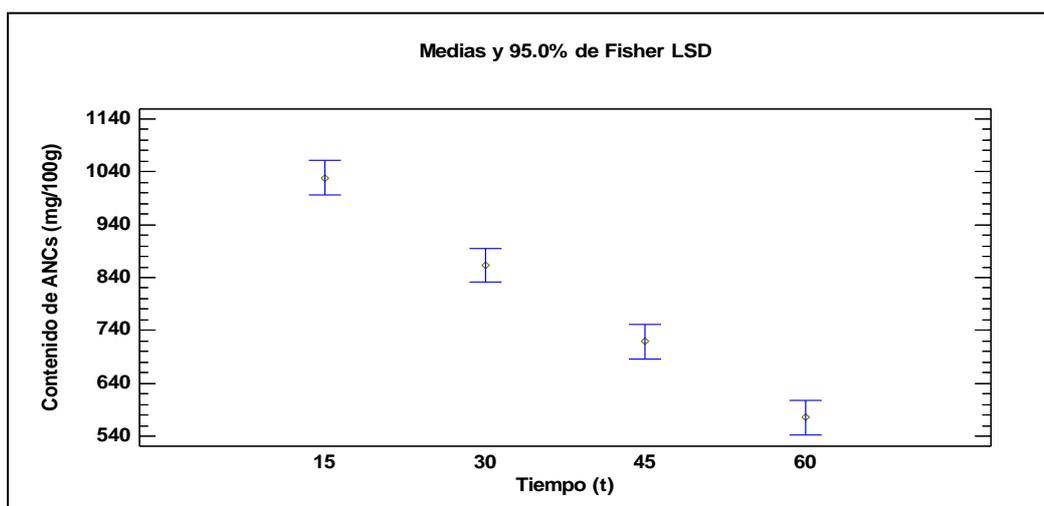
**Cuadro 31** Pruebas de Múltiple Rangos para Contenido de **ANCs** (mg/100 g) por Tiempo (t). Método: 95,0 porcentaje LSD.

Tiempo (t)	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
60	9	576,02	22.27	X
45	9	719,042	22.27	X
30	9	863,073	22.27	X
15	9	1028,5	22.27	X

\* Evaluados  $\alpha=0,05$

**Fuente:** Statgraphics Centurión XVI.II

En la figura 13 muestra las diferencias entre ellos: el tratamiento almacenado durante los 60 días es el menos estable. Es posible entonces comprobar que estadísticamente son diferentes en media, por lo tanto tiene mayor influencia en la estabilidad del contenido antociánico, tal como se observa las líneas de los niveles de tiempos no interceptados e indica la diferencia de los datos.



**Figura 13** Comparación de la influencia de tiempo en el contenido antociánico de la bebida gasificada con colorante antociánico.

**Cuadro 32** Pruebas de Múltiple Rangos para Contenido de ANC (mg/100 g) por Temperatura (C). Método: 95,0 porcentaje LSD

Temperatura °C	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
30	12	568,053	19,2864	X
18	12	790,782	19,2864	X
7	12	1031,14	19,2864	X

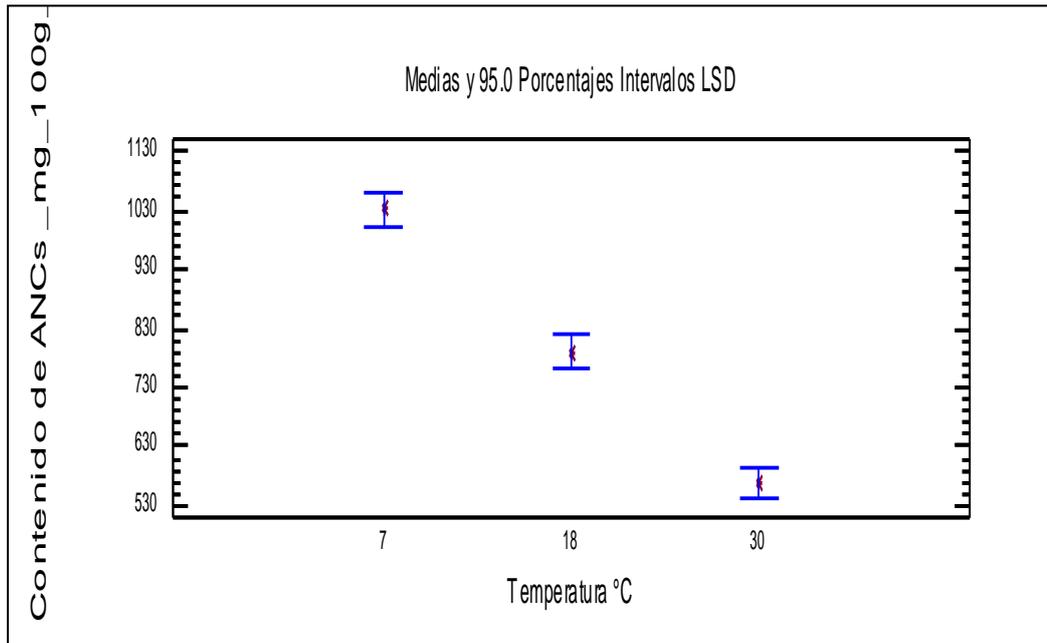
\* Evaluados  $\alpha=0.05$

**Fuente:** Elaboración propia, Statgraphics Centurión XVI.II

Con la prueba LSD (Diferencia Mínima significativa) al 5% presentada en el **cuadro 32**, mostró diferencias estadísticamente significativas de los niveles de Temperatura (°C) de almacenamiento en el contenido antociánico de la bebida gasificada con colorante

antociánico, se determinó que los tratamientos almacenados a Temperatura de 30 ° C sufrieron una mayor degradación del contenido antociánico ubicándose en el rango estadístico X.

En este caso la Temperatura influye estadísticamente en la estabilidad de la bebida gasificada con colorante antociánico.



**Figura 14** Comparación de la influencia de Temperatura en el contenido antociánico de la bebida gasificada con colorante antociánico.

En la figura 14 muestra las diferencias entre ellos: el tratamiento almacenado a 30 °C es el menor estable. Es posible entonces verificar que estadísticamente son diferentes en media, por lo tanto tiene mayor influencia en la estabilidad del contenido ANCs, tal como se observa las líneas de los niveles de Temperatura (°C) no interceptados e indica la diferencia de los datos.

### 3.7.2. EVALUACIÓN DEL COLOR POR ABSORBANCIA (Abs 520 nm) A EN LA BEBIDA GASIFICADA CON COLORANTE ANTOCIÁNICO CAPACHU.

**Cuadro 33** Resultados de la lectura de absorbancia a (520 nm) en la bebida gasificada con colorante antociánico Capachu.

Tratamientos	Almacenamiento		Absorbancia de la muestra (520 nm)		
	Temperatura °C	tiempo (t)	X ± S		
T1	7	15	0,967	±	0,047
T2	18	15	0,898	±	0,016
T3	30	15	0,861	±	0,025
T4	7	30	0,915	±	0,038
T5	18	30	0,874	±	0,039
T6	30	30	0,716	±	0,004
T7	7	45	0,859	±	0,005
T8	18	45	0,707	±	0,004
T9	30	45	0,572	±	0,008
T10	7	60	0,793	±	0,042
T11	18	60	0,605	±	0,003
T12	30	60	0,410	±	0,005

**X:** Promedio de 3 repeticiones

**S:** Desviación estándar

En el cuadro anterior cuadro 33 los datos obtenidos en este caso son la de absorbancia a 520 nm de longitud de onda con desviación estándar para cada tratamiento, por tanto estos valores evalúan la estabilidad de las antocianinas presentes en la bebida gasificada con colorante antociánico Capachu, lo cual expresa el tratamiento (T1) almacenado a Temperatura de 7°C y un tiempo de 15 días, la absorbancia es de 0.967, lo cual me indica que bajo de 1.076 medido inicialmente antes de su almacenado cuadro 25. Además cada tratamiento almacenado a diferentes condiciones de temperatura y evaluados por cada 15 días, presentan variación que se detallara a continuación.

**Cuadro 34** Variación de absorbancia ( $\Delta$  Abs) y el porcentaje de la variación % ( $\Delta$  Abs) en 15; 30; 45 y 60 días de almacenado la bebida gasificada con colorante antociánico Capachu.

Tratamientos	Absorbancia de la muestra (520 nm)			Promedio	$(\Delta \text{ Abs})$	$\% (\Delta \text{ Abs})$
	R1	R2	R3			
T 1 (7°C, 15 días)	0,901	0,999	1,001	0,967		
T 4 (7 °C, 30 días)	0,968	0,897	0,879	0,915	0,174	18 %
T 7 (7 °C, 45 días)	0,859	0,852	0,865	0,859		
T 10 (7 °C, 60 días)	0,761	0,852	0,765	0,793		
T 2 (18°C, 15 días)	0,895	0,919	0,879	0,898		
T 5 (18 °C, 30 días)	0,825	0,919	0,879	0,874	0,293	33 %
T 8 (18°C, 45 días)	0,713	0,705	0,704	0,707		
T 11 (18 °C, 60 días)	0,606	0,601	0,608	0,605		
T 3 (30°C, 15 días)	0,853	0,835	0,894	0,861		
T 6 (30 °C, 30 días)	0,710	0,718	0,719	0,716	0,451	52 %
T 9 (30 °C, 45 días)	0,581	0,573	0,562	0,572		
T 12 (30 °C, 60 días)	0,416	0,404	0,409	0,410		

Si bien los menores valores (0,572) y (0,410), para la absorbancia se obtiene de la bebida almacenada (T9, T12) a Temperatura de 30 °C en un Tiempo de 45 y 60 días respectivamente, sin embargo este valor difiere estadísticamente con los demás tratamientos especificados en el cuadro 34.

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

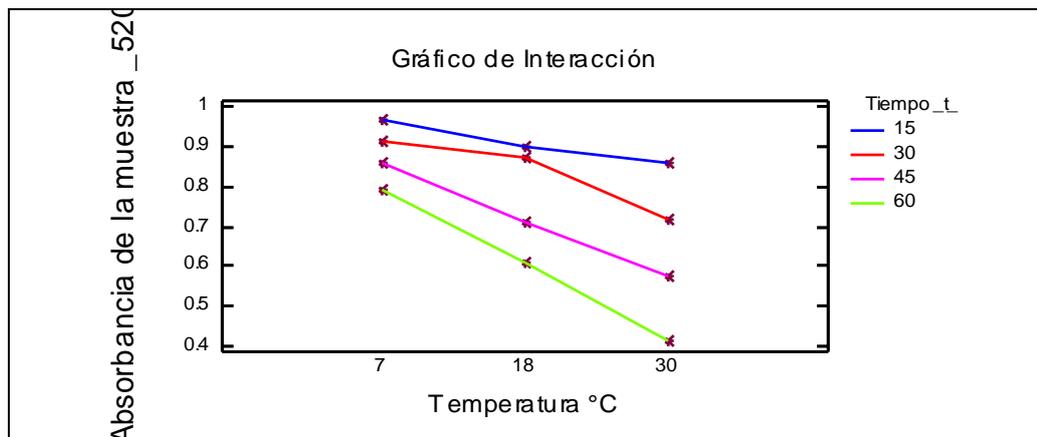
**Cuadro 35** Análisis de la Varianza para Absorbancia de la muestra (520 nm) Sumas de Cuadrados de Tipo III

FUENTE	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Temperatura °C	0,357	2	0,179	180,070	0,000
B:Tiempo _t_	0,492	3	0,164	165,210	0,000
INTERACCIONES					
AB	0,070	6	0,012	11,780	0,058
RESIDUOS	0,024	24	0,001		
TOTAL (CORREGIDO)	0,943	35			

\* Evaluados  $\alpha=0,05$

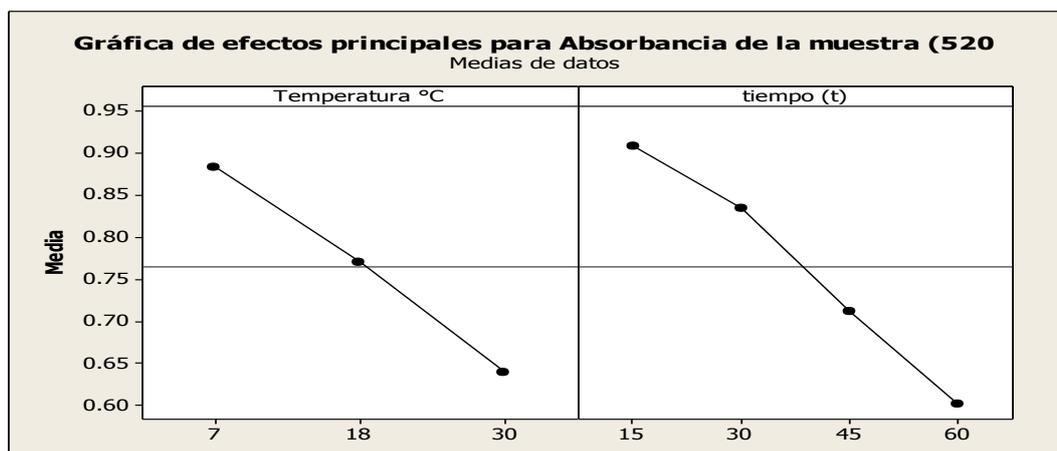
**Fuente:** Elaboración propia, Statgraphics Centurion XVI.II

**Interpretación:** El P-valor para temperatura ( $T$  °C) y Tiempo (días) de almacenamiento es menor a 0,05; entonces existe una diferencia estadísticamente significativa, mas no para la interacción de estos dos factores, por lo que es superior a 0,05; por lo tanto podemos afirmar que los factores de tiempo y temperatura si influye en la estabilidad del colorante antociánico de la bebida gasificada, mas no la interacción, con un nivel del 95,0 % de confiabilidad y se acepta la hipótesis nula  $H_0$ .



**Figura 15** Interacción de los factores en la variación de la absorbancia ( $\Delta$  Abs) de la bebida gasificada con colorante antociánico Capachu.

**Interpretación:** Según la figura 12 la menor variación de la absorbancia ( $\Delta$  Abs) que presenta las antocianinas en la bebida gasificada con colorante antociánico Capachu es a temperatura de 7 °C y 18 °C almacenado por un periodo de 15 días y 30 días, por lo tanto podemos afirmar que a medida que el tiempo pasa el producto almacenado en condiciones de temperatura baja la variación la absorbancia ( $\Delta$  Abs) es mínima.



**Figura 16** efectos principales para la variación de absorbancia ( $\Delta$  **Abs**) de la bebida gasificada con colorante antociánico.

**Interpretación:** La figura 16 muestra la influencia de los tratamientos en función de la absorbancia (Abs), tanto el tiempo y la temperatura influye en la estabilidad de las antocianinas afectando así el color presentes en la bebida gasificada con colorante antociánico, a tiempos y temperaturas mayores, la variación de esta absorbancia ( $\Delta$  **Abs**) de las antocianinas es mayor, por tanto podemos afirmar que el almacenado a esas condiciones de temperatura en un tiempo mayor es inestable la antocianina presente en dicho producto.

### **3.7.3. ANÁLISIS SENSORIAL DE LA BEBIDA GASIFICADA CON COLORANTE ANTOCIÁNICO CAPACHU DURANTE EL ALAMCENAMIENTO.**

La evaluación sensorial se realizó para determinar si existe diferencia significativa en los atributos de los doce tratamientos, para ello se realizó un análisis sensorial a los 12 tratamientos de bebida gasificada con colorante antociánico, mediante el método efectivo empleando la prueba hedónica, para lo cual se empleó una cartilla que se adjunta en el **Anexo 9; 10 y 11**; la finalidad del análisis fue el de evaluar las características organolépticas de las bebidas (sabor, aroma, color) aceptabilidad y preferencia, del total de muestra analizada. La prueba se realizó con 17 panelistas semis entrenados, los cuales indicaron el grado de aceptación en cada muestra presentada, indistintamente sin ningún orden especial, para tal calificación fue necesario tabular cada categoría empleando puntajes numérico, para realizar el análisis de varianza (ANOVA) y determinar si existe diferencias significativas en el promedio de los puntajes asignados en las muestras.

## A. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA EL ATRIBUTO SABOR

Los resultados se muestran en el cuadro 36, la variación de los puntajes calificados de los panelista expresados con nivel de grado, aceptación y preferencia de la bebida gasificada con colorante antociánico, con pruebas de satisfacción de escala hedónica.

**Cuadro 36** Análisis de la Varianza para SABOR - Sumas de Cuadrados de Tipo III

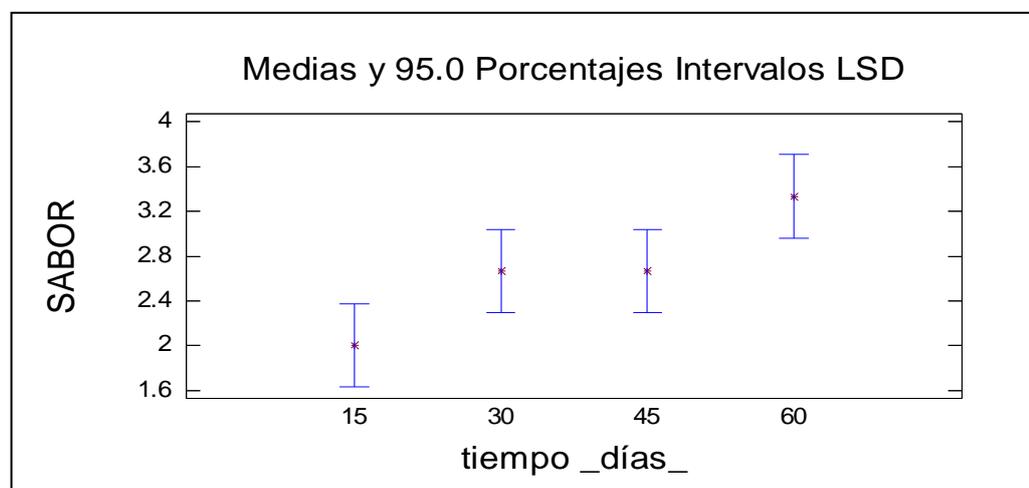
<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Cociente F</i>	<i>P-Valor</i>
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Temperatura °C	1,16667	2	0,583333	4,20	0,0723
B:tiempo _días_	2,66667	3	0,888889	6,40	0,0267
RESIDUOS	0,83333	6	0,138889		
TOTAL (CORREGIDO)	4,66667	11			

\* Evaluados  $\alpha=0,05$

**Fuente:** Elaboración propia, Statgraphics Centurion XVI.II

Según el cuadro anterior se comprueban la importancia estadística de cada una de los factores. Dado que el p-valor de temperatura (°C) es superior a 0,05; entonces este factor no tiene efecto estadísticamente significativo en SABOR un 95,0% de confiabilidad. Mientras que el p-valor de tiempo (días) es inferior a 0,05, este factor si tiene efecto estadísticamente significativo en SABOR.

El análisis de varianza, sin embargo no establece cual o cuales de los tratamientos son mejores.



**Figura 17** porcentajes de intervalos LSD SABOR.

La bebida con mejor sabor se mantiene en 15 días seguido los 30 y 45 días como se observa la figura anterior estas se traslapan lo cual son iguales en su media, puesto que a 60 días el sabor cambia.

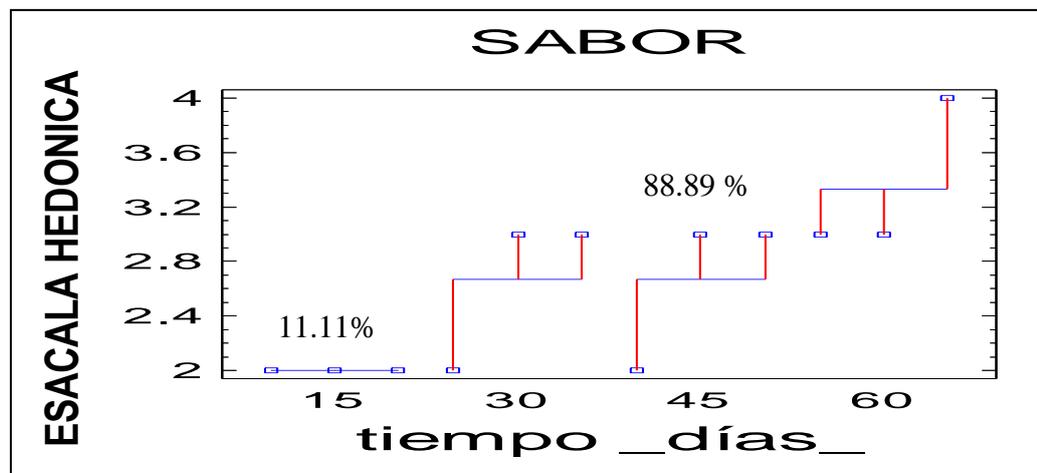
**Cuadro 37** Análisis de componentes de la varianza SABOR.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Com. Var.</i>	<i>porcentaje</i>
TOTAL (CORREGIDO)	4,6667	11			
A:Temperatura °C	1,16667	2	0,583333	0,04861	11,11
B:tiempo _días_	3,5	9	0,388889	0,38889	88,89

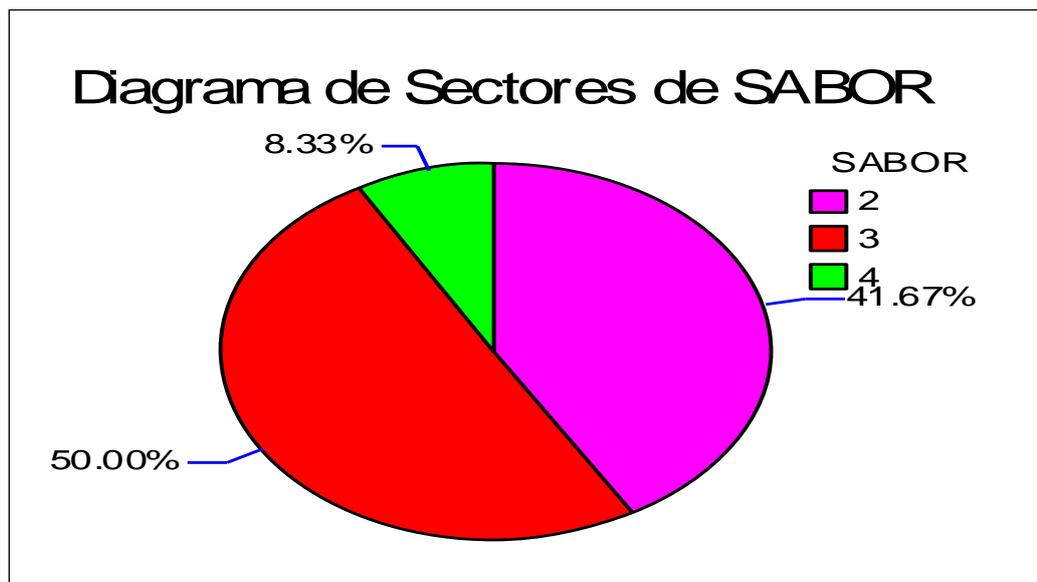
\* Evaluados  $\alpha=0,05$

**Fuente:** Elaboración propia, Statgraphics Centurion XVI.II

En el cuadro anterior la varianza de SABOR divide en 2 componentes, uno por cada factor. El objetivo de este análisis fue estimar la cantidad con la que se contribuyen a la varianza, llamados componentes de la varianza. Por tanto el factor que contribuye con la máxima varianza es el Tiempo (días). Que su contribución representa 88,89 % del total de la variación en sabor. Es decir existe diferencia significativa entre los tratamientos almacenados en tiempos diferentes y hay tratamientos mejor aceptados que otros.



**Figura 18** Porcentajes de intervalos LSD SABOR



**Figura 19** Componentes de varianza del tiempo (días).

### B. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA EL ATRIBUTO AROMA

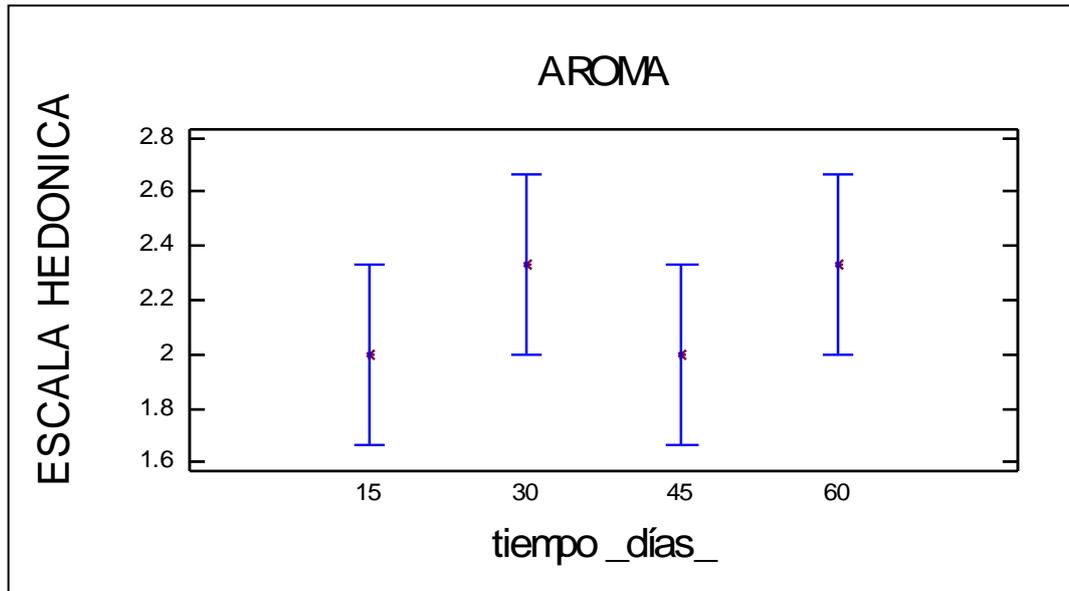
Según el **cuadro 38**, se comprueban que ningún p-valor es inferior a 0,05; por tanto ninguno de los factores tiene efecto estadísticamente significativo en AROMA para el nivel de confianza del 95,0 %. Lo cual podemos afirmar que esta característica AROMA no presenta ninguna diferencia significativa durante el almacenamiento de la bebida gasificada con colorante antocianico, de tal manera se acepta la hipótesis nula  $H_0$ .

**Cuadro 38** Análisis de la Varianza para AROMA - Sumas de Cuadrados de Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Grados</i>		<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Cociente F</i>	<i>P-Valor</i>
	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>de libertad</i>			
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Temperatura °C	0,66667	2	0,333333	3,00	0,1250
B:tiempo _días_	0,33333	3	0,111111	1,00	0,4547
RESIDUOS	0,66667	6	0,111111		
TOTAL (CORREGIDO)	1,66667	11			

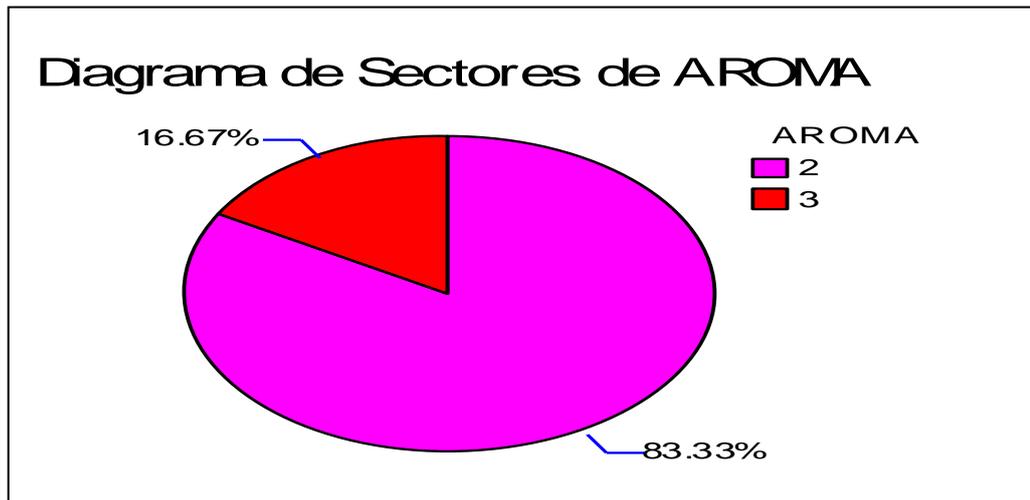
\* Evaluados  $\alpha=0,05$

**Fuente:** Elaboración propia, Statgraphics Centurio XVI.II



**Figura 20** Porcentajes de intervalos LSD AROMA.

En este caso todos los intervalos de confianza se traslapan, los tratamientos correspondientes son estadísticamente iguales en cuanto a su media. Por lo tanto el sabor no influye en la estabilidad del colorante antocianínico durante el almacenamiento de una bebida gasificada.



**Figura 21** Tabulación de las variables tiempo (días) y temperatura (°C).

### C. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA EL ATRIBUTO COLOR.

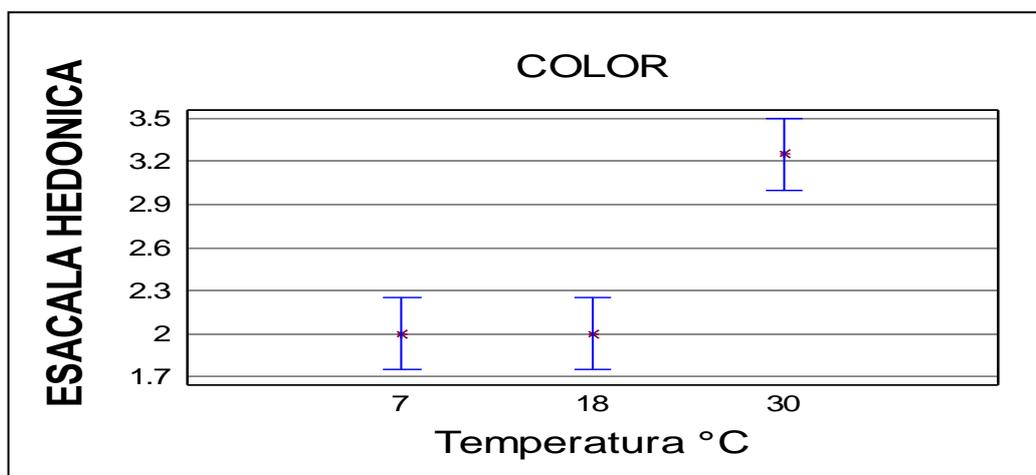
**Cuadro 39** Análisis de la Varianza para COLOR - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Grados		Cuadrado Medio	Cociente F	P-Valor
	Suma de cuadrados	de libertad			
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Temperatura °C	4,16667	2	2,08333	25,00	0,0012
B:tiempo _días_	0,25	3	0,083333	1,00	0,4547
RESIDUOS	0,5	6	0,083333		
TOTAL (CORREGIDO)	4,91667	11			

\* Evaluados  $\alpha=0,05$

**Fuente:** Elaboración propia, Statgraphics Centurio XVI.II

Según el cuadro anterior se comprueba que un factor, en este caso el factor de Temperatura (°C) es inferior a 0,05; por tanto este factor tiene efecto estadísticamente significativo en COLOR para un 95 % de confiabilidad. Sin embargo para el factor tiempo (días) es superior P-Valor a 0,05; lo que demuestra que no hay efecto significativo en COLOR. Por otro lado el factor tiempo es superior a 0,05% por tanto este factor no tiene efecto estadísticamente significativo en COLOR. El análisis de varianza, sin embargo no establece cual o cuales de los tratamientos son mejores.



**Figura 22** Porcentajes de intervalos LSD COLOR

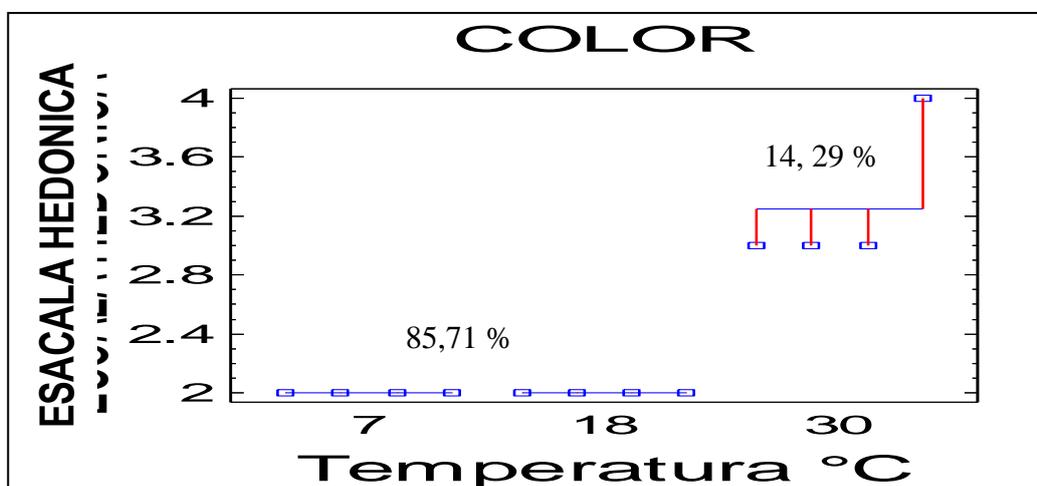
**Cuadro 40** Análisis de componentes de la varianza COLOR.

Fuente	Grados		Cuadrado Medio	Com. Var.	Com. porcentaje
	Suma de cuadrados	de libertad			
TOTAL (CORREGIDO)	4.6667	11			
A:Temperatura °C	1.16667	2	0.583333	0.04861	85.71
B:tiempo _días_	3.5	9	0.388889	0.38889	14.29

\* Evaluados  $\alpha=0,05$

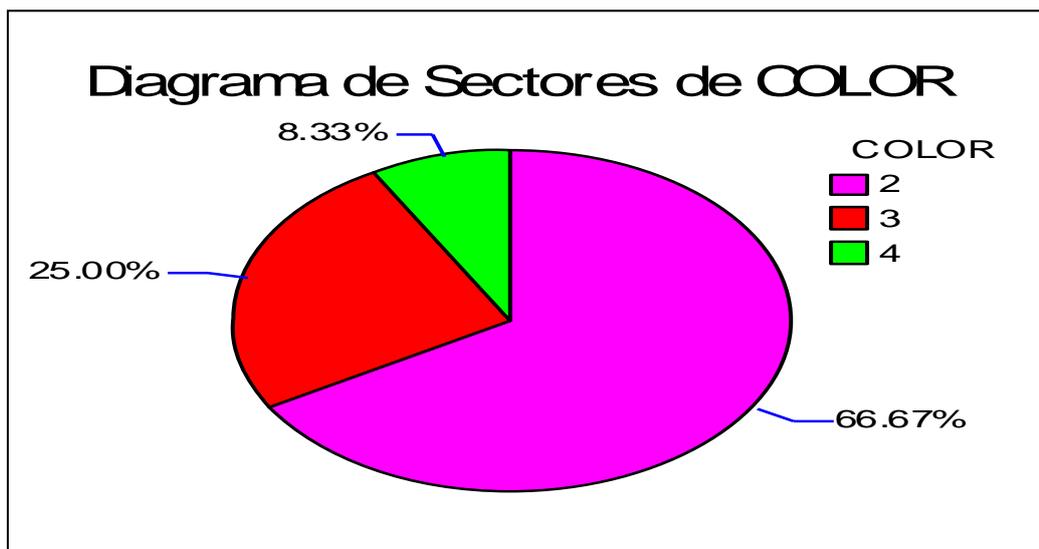
**Fuente:** Elaboración propia, Statgraphics Centurion XVI.II

En el cuadro 40 anterior la varianza de COLOR divide en 2 componentes, uno por cada factor. El objetivo de este análisis fue estimar la cantidad con la que se contribuyen a la varianza, llamados componentes de la varianza. Por tanto el factor que contribuye con la máxima varianza es la Temperatura (°C). Que su contribución representa 85,71 % del total de la variación en color. Es decir existe diferencia significativa entre los tratamientos almacenados en temperaturas diferentes y hay tratamientos mejor aceptados que otros.



**Figura 23** Componentes de varianza de Temperatura (°C).

En la figura anterior de análisis sensorial para el atributo color las bebidas almacenadas a temperatura de 7 y 18 °C son aceptables y presentan variación significativa, por tanto la temperatura influye en el color de la bebida gasificada.



**Figura 24** Tabulación de las variables tiempo (días) y temperatura (°C).

En el diagrama de sector de color de la figura 24, se aprecian las escalas de calificación en un 66,6 % de agradable, en un 25,00 % poco agradable y en un 8,33% nada agradable, lo cual es aceptable el color en la bebida gasificada con colorante antociánico.

## IV. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 4.1. DISCUSIÓN DE RESULTADOS DE LAS CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS PROXIMALES DEL FRUTO SILVESTRE CAPACHU FRESCO.

Los resultados de las características fisicoquímicas proximales del fruto reporto  $0,125 \pm 0,002$  g de peso y  $4,950 \pm 0,125$  mm de diámetro, con respecto al peso no se registra estudios realizados a este fruto, sin embargo, **Aroni (2013)** quien determino que el promedio del diámetro de este fruto oscila entre 4 a 8 mm, el cual es un margen en el que también se encuentran los datos obtenidos. Respecto a la composición física del fruto silvestre Capachu corresponde  $62,50 \pm 0,148$  % de pulpa  $37,50 \pm 0,160$  % de semilla; si bien el contenido de pulpa es mayor en estos frutos silvestres las semillas son casi detectables por su tamaño regular.

Por otro lado, en el análisis bromatológico realizados al zumo de este fruto la composición de antocianinas fue  $1557,23 \pm 1,56$  mg / 100g comparando con el reporte mencionado por **Aroni, (2013)** que para este fruto silvestre contiene un total de antocianinas 2026,201 mg/100 g, tendría una diferencia de 23,20 % lo cual es significativo en su variación, cabe mencionar que en su extracción sólido – líquido de antocianinas utilizó como solvente el CHI 0,1 N, mientras **Hears, et al., (2013)** emplea etanol a 50 %, con fines e aplicación alimentaria y por recomendación de **Santa Cruz, (2011)** utilizó ácido cítrico por ser menos corrosivo y etanol a 50% como solvente, por tanto el ácido cítrico como el ácido clorhídrico ambos son utilizados para extraer antocianinas, sin embargo actúan diferente por su composición.

En caso del porcentaje de Humedad se muestra en el cuadro 19 con una proporción de 84,04 % de Humedad en fruto fresco, sin embargo para la extracción de antocianinas el

fruto seco tuvo un 15,95 % de Humedad, tal como lo reporta **Aroni (2013)** en su investigación.

Así mismo los resultados en el cuadro 20 muestran que el fruto silvestre Capachu, tiene un pH  $2,06 \pm 0,03$  por lo que se puede considerar una fruta muy acida, de acuerdo a la tabla de clasificación de los alimentos según su acidez por **Ávila (201)** mostrados en el **Anexo 13**. En cuanto al contenido de sólidos solubles, se puede observar que tiene  $8,43 \pm 0,33$  °Brix hecho que no represento ningún problema para la metodología de la investigación, ya que solo se utilizó el extracto en un porcentaje de dilución.

#### **4.2. DISCUSIÓN DE RESULTADOS DE LAS CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS PROXIMALES DE LA BEBIDA GASIFICADA CON COLORANTE ANTOCIÁNICO CAPACHU DURANTE EL ALMACENAMIENTO.**

Los análisis fisicoquímicos realizados en la primera etapa de elaborada la bebida gasificada con colorante antociánico como se muestra en el cuadro 22, evidencian que en su almacenado a diferentes condiciones de temperaturas y tiempos haya una variabilidad de datos, esta variabilidad se comprueba en el cuadro 26, es así que las características generales de una bebida gasificada según la Norma Técnica Peruana "214,001, octubre 1985, los sólidos solubles, pH, Densidad y Presión de gas evaluados cada 15 días durante 2 meses, se encuentran en el rango establecido.

Según la figura 8 los sólidos solubles (°Brix) se mantiene casi constantes hasta el día 30, mostrándose así una mínima variación de alteración, pero a partir de los posteriores días los tratamientos almacenados a temperatura de 30 °C desciende significativamente, mientras que a temperatura de 7 °C y 18 °C aún se mantienen casi constantes.

En cuanto al pH y densidad de la bebida como se aprecia en la figura 7 y 8 también la variación es mínima, lo cual podemos afirmar que se mantiene en un pH y densidad casi constante y no se aprecia ningún tipo de alteración, en caso de la presión de gas asciende significativamente a partir del día 45, por tanto podemos afirmar que la temperatura y tiempo de almacenado, influye en los sólidos solubles y la presión de gas, entonces estas características fisicoquímicas tienen una influencia mínima en la estabilidad de la bebida gasificada con colorante antociánico, por otro lado **Cáceres, (2000) y Cuevas (2008)** mencionas que la acidez es un importante factor en todos los tipos de refrescos. El valor de pH también influye sobre los conservantes, los cuales tienen mayor actividad a bajos valores de pH por ejemplo: el ácido benzoico y benzoatos cuya máxima actividad la realizan a valor de pH inferior a 3,40 y recomienda que las muestras para análisis estén a 25 ° C, que es la temperatura de referencia para la medición de pH, lo cual respalda a los datos obtenidos en el análisis de la investigación y como justamente esas son las condiciones del producto.

#### **4.3. DISCUSIÓN DE RESULTADOS DE LA ESTABILIDAD DEL COLORANTE ANTOCIÁNICO CAPACHU EN LA BEBIDA GASIFICADA DURANTE EL ALMACENAMIENTO.**

##### **4.3.1. CUANTIFICACIÓN DEL TOTAL DE ANTOCIANINAS MEDIANTE EL MÉTODO DEL pH DIFERENCIAL DE LA BEBIDA GASIFICADA CON COLORANTE ANTOCIÁNICO CAPACHU.**

Durante la etapa de almacenamiento de la bebida gasificada con colorante antociánico, los resultados mostrados en el cuadro 29, demuestran que el contenido de ANCs en la bebida es afectada por la temperatura en función al tiempo, con lo que respecta a la estabilidad es notoriamente afectada por el calor; esto debido que a elevadas

temperaturas como 30 °C durante los 60 días muestran un porcentaje de variación % ( $\Delta$  ANCs) en un 65 %, a 18 °C durante los 60 días muestran un porcentaje de variación % ( $\Delta$  ANCs) en un 44% y a 7 °C durante los 60 días, muestran un porcentaje de variación % ( $\Delta$  ANCs) en un 29 %, esto implica que a menor temperatura menor es la degradación del contenido de ACNs afectando la estabilidad del producto. Además las bebidas almacenadas a temperaturas altas influye en gran medida a la descomposición de las antocianinas como lo señala **Barreiro, (2006)**, Al respecto **Timberlake, (1986)** concluye que las antocianinas son destruidas por el calor durante el procesamiento y el almacenamiento de un producto. No obstante **Huayhua (2008)** en su investigación reporta que antes y después de la pasteurización, la estabilidad de estas sustancias en las bebidas no son afectadas, esto contradice a lo mencionado anteriormente por Barreiro (2006), debido a que no fueron almacenadas en el tiempo (días). Por tanto el tiempo de almacenamiento es la que también predomina en la estabilidad del contenido antocianínico en la bebida gasificada.

Además **Arazola, et al., (2013)** en su investigación afirma que la bebida Isotonica y la bebida a base de aloe vera con maltodextrina almacenadas a 4 °C presentaron mayor retención de antocianinas (77,5 %) en un periodo de 15 días. **Aguilera (2009)** demostró que la mayor estabilidad de antocianinas extraído de higo Missionse presenta a un pH 3, Temperatura de 4 °C y en oscuridad conservándose durante 14 días.

Es más **Almeida, (2012)** concluye que las antocianinas en extracto líquido de maíz morado al igual que otros pigmentos de origen natural son sensibles a la temperatura y tiempo de almacenamiento que debido a su elevada actividad de agua se degrada en 30 días, además el tiempo de vida útil de estos pigmentos son 60 días, si se almacena sellado al vacío en envases de color ámbar y en un lugar fresco y seco.

En el cuadro 30, de análisis de varianza (ANOVA) demuestran que el P-valor de variación de contenido de ANCs por cada factor tiempo (días) y temperatura (°C) es menor a 0,05 respectivamente, entonces se acepta la hipótesis alterna ( $H_a$ ) rechazándose así la hipótesis nula ( $H_0$ ) por que existe una diferencia estadísticamente significativa, por lo tanto podemos decir que si influye significativamente en la estabilidad de las antocianinas presentes en la bebida gasificada con colorante antociánico Capachu, con un nivel de 95,0 % de confiabilidad.

Respecto a la interacción de estos dos factores tiempo (días) y temperatura (°C) el P-valor determino 0,000 menor a 0,05. Efectivamente se acepta la hipótesis alterna ( $H_0$ ) aceptándose así la hipótesis nula ( $H_a$ ), esto implica que la interacción de estos dos factores si influyen significativamente en la estabilidad del colorante antociánico en la bebida gasificada.

Según la prueba LSD de múltiple rango con 95,0 % de confiabilidad evaluados a  $\alpha=0,05$  que se detalla en el cuadro 31, compara la influencia de tiempos de almacenamiento de la bebida gasificada con colorante antociánico, demostrando así que existe una evidencia suficiente de que el tiempo de almacenamiento tiene efecto en la estabilidad del contenido antocianas ANCs y se reporta mayor estabilidad en un tiempo de 15 y 30 días y mayor influencia de variación a los 60 días. Por otra parte compara también la influencia de la Temperatura de almacenamiento, mostrando en este caso la estabilidad del contenido de antocianinas ANCs en la bebida gasificada, siendo mayor cuando se almacena a temperaturas de 7 y 18 °C.

#### 4.3.2. EVALUACIÓN DEL COLOR POR ABSORBANCIA (Abs 520 nm) A EN LA BEBIDA GASIFICADA CON COLORANTE ANTOCIÁNICO CAPACHU.

De los resultados obtenidos en el cuadro 33 sobre el color por absorbancia a (520 nm) durante el almacenamiento los tratamientos T1; T4; T7 y T10 almacenados a una temperatura de 7 °C reportan variación de absorbancia menores en comparación a los demás tratamientos y el porcentaje de variación de absorbancia de estos tratamientos varían en un 18 % evaluados durante los 15; 30; 45 y 60 días de almacenado. Sin embargo los tratamientos T2; T5; T8 y T11 almacenados a una temperatura de 18 °C y evaluados durante los 15; 30; 45 y 60 días, varían en un 33 %, lo cual muestra una mínima variación a diferencia de los tratamientos T3; T6; T9 y T12 que fueron almacenados a temperatura de 30 °C y presentan una variación abismal de 52 %. Al respecto **Aroni, (2013)** en su investigación menciona que la estabilidad de las antocianinas presentes en el fruto Capachu (*Hesperomeles escalloniifolia*Schltld) almacenados a temperaturas de 20 °C y 30 °C un pH de 3, por 30 días varían en un 4,53 % y 13,53 % respectivamente; por tanto podemos decir que el colorante antociánico en la bebida gasificada almacenada en condiciones bajas de temperaturas son estables.

En el cuadro 35, de análisis de varianza (ANOVA) demuestran que el P-valor de variación de absorbancia por cada factor tiempo (días) y temperatura (°C) es menor a 0,05 respectivamente. Mientras que la interacción es superior, esto implica que no existe una diferencia estadísticamente significativa, por tanto se acepta la hipótesis nula ( $H_0$ ) y rechaza la hipótesis alterna ( $H_a$ ), en consecuencia la variación de Abs en la bebida gasificada al menos 2 tratamientos son iguales, toda vez que se almacenen en un tiempo (días) y temperatura (°C) establecida.

De tal forma este comportamiento observado coincide con lo citado por **Fossen, et al., (1998)** quien señala que el color de las antocianinas se modifica fácilmente por efectos de gran cantidad de reacciones que ocurren en los alimentos y se presenta mayores variaciones durante el almacenamiento debido a su inestabilidad producida por diversos factores como: pH, temperatura, oxígeno, luz, entre otros.

Además **Aroni, (2013)**. Menciona en su investigación que 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.

#### **4.3.3. ANÁLISIS SENSORIAL DE LA BEBIDA GASIFICADA CON COLORANTE ANTOCIÁNICO CAPACHU DURANTE EL ALMACENAMIENTO.**

Los resultados de las características organolépticas de la bebida gasificada con colorante antociánico, se muestran en los cuadros 36; 38 y 39 donde se utilizó la escala hedónica en la evaluación de los atributos sabor, aroma y color aplicando el análisis de varianza (ANOVA), ya que los datos son dependientes de dos factores tales como el Tiempo (días) y Temperatura (°C) de almacenamiento.

Respecto al atributo SABOR del cuadro 36 y 37 se pudo demostrar que si existe diferencia significativa en los 12 tratamientos, siendo el factor tiempo (días) con efecto estadísticamente significativo, representando un 88,89 % de contribución en el componentes de variación de SABOR, así mismo en la figura 19 del diagrama de sectores para SABOR, representa según la escala hedónica del cuadro 13 un 50 % el valor 3 que califica poco agradable, un 41,67 % el valor 2 que califica agradable y un 8,33% el valor 4 que califica nada agradable.

En lo que concierne al atributo AROMA no presentaron diferencias significativas dado que el p-valor es inferior a 0,05. Por tanto ninguno de los factores tiene efecto

estadísticamente significativo, según el diagrama de sectores de AROMA, representa un 83,33 % del valor 2 que califica agradable y un 16,67 % del valor 3 que califica poco agradable.

En cuanto al atributo COLOR del cuadro 39 se pudo demostrar que si existen diferencias significativas, comprobando que el factor Temperatura (°C) es inferior P-Valor a 0,05; lo cual tiene efecto estadísticamente significativo en COLOR, representando un 85,71 % de contribución del total de la varianza tal como lo señala el cuadro 40 de análisis de componentes de varianza COLOR. Así mismo en la figura 24 del diagrama de sectores de COLOR representa un 66,67 % del valor 2 que califica agradable, un 25 % del valor 3 que califica poco agradable y un 8,33 % del valor 4 que califica nada agradable. Además **Cano, (2011)** menciona que la estabilidad de estos pigmentos naturales en cada tratamiento valorada durante un proceso de almacenamiento en el primero, décimo quinto y vigésimo octavo día. Como tal se evaluó las características organolépticas con 10 catadores, demostrando los cambios de color de estos pigmentos a base de tomate y mora.

Según lo demostrado podemos afirmar que hay tratamientos mejor aceptados que otros, tales como en los atributos aroma y color hay mayor aceptabilidad a diferencia que el atributo sabor. Por lo tanto las características organolépticas de la bebida gasificada con colorante antociánico Capachu influyen significativamente en las estabilidades del colorante antociánico.

## V. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente estudio se llegó a las siguientes conclusiones:

- El fruto silvestre Capachu es un fruto con buenas características fisicoquímicas, ya que presenta:  $8,43 \pm 0,33$  °Brix;  $\pm 2,06 \pm 0,03$  pH;  $1557,23 \pm 1,56$  mg Cianidina -3-glucósido / ml, lo que demuestra su poder antioxidante y rico en contenido de antocianinas, contribuye una materia prima adecuada para la elaboración de la bebida gasificada con colorante antociánico.
- Las condiciones adecuadas de extracción para la obtención del extracto de colorante del fruto silvestre Capachu son: medio acuoso acidulado (ácidos débiles) con un tiempo de contacto solvente/ grano 8:2 por 24 horas a temperatura de 18 °C.
- Se obtuvo el contenido antociánico durante el almacenamiento de una bebida gasificada con colorante antociánico Capachu, hubo una mínima variación de 29 % de disminución en los tratamientos que fueron almacenados a Temperaturas (°C) bajas, del mismo modo un 44 % de variación representa a los tratamientos almacenados a Temperaturas ambiente, sin embargo la variación de un 65% representan a los tratamientos almacenados en altas temperaturas, entonces el Tiempo (días) y Temperatura (°C) de almacenamiento influyen significativamente en el contenido de antocianinas afectando la estabilidad de antocianinas, por lo tanto a menor variación de datos hay mayor retención de contenido antociánico.
- Los colorantes antociánicos, al igual que otros pigmentos de origen natural, son sensibles a la temperatura y tiempo de almacenamiento, se estima que el color por absorbancia permanece estable a temperaturas bajas con menor variabilidad, como son T1; T4; T7 y T10 almacenados a 7 °C varían en un 18 % además T2; T5; T8 y

T11 almacenados a 18°C varían en un 33 %, el que predomina la variabilidad de datos son T3;T6; T9 y T12 almacenados a 30 °C, por lo tanto a menor variación de datos el color es permanente y no influye significativamente en la estabilidad del colorante antociánico durante el almacenamiento de una bebida gasificada.

- En la evaluación sensorial, la bebida gasificada con colorante antociánico comparado entre los tratamientos que fueron almacenados en Temperaturas y Tiempos diferentes, indican que el sabor y color presentan diferencias significativas entre los mismos, a diferencia que en el aroma no presenta diferencia significativa, por consiguiente podemos decir que no hubo ninguna alteración en el aroma durante el almacenamiento de la bebida gasificada con colorante antociánico.
- Por lo tanto a mayor Temperatura (°C) y Tiempo (días) de almacenamiento el nivel de influencia de estos factores es alto e influye significativamente en la bebida gasificada con colorante antocianico Capachu durante el almacenamiento.

## RECOMENDACIONES

- ✓ Estudiar otras fuentes de antioxidante en el fruto silvestre Capachu (*Hesperomeles escalloniifolia Schlttdl*).
- ✓ Evaluar los costos de producción de los colorantes provenientes del fruto silvestre Capachu (*Hesperomeles escalloniifolia Schlttdl*).
- ✓ Evaluar los costos de producción de la bebida gasificada con colorante antocianico provenientes del fruto silvestre Capachu (*Hesperomeles escalloniifolia Schlttdl*).
- ✓ Realizar estudios que permitan establecer el tiempo de vida util, del producto para su consumo.
- ✓ Realizar un estudio de pre-factibilidad para producción de la bebida a partir del fruto silvestre Capachu (*Hesperomeles escalloniifolia Schlttdl*).
- ✓ Realizar estudios referidos a toxicología, la ingestión diaria admisible (IDA) y el nivel de efecto adverso observable (NOAEL) de estas sustancias, procedentes en su mayoría de fuentes naturales (antocianinas).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilera, (2009).** “*Caracterización y estabilidad de antocianinas de higo*”, variedad Mission. Revista U ciencia, pp. 151-158.
- Aguilera, M. Resa, M. Chew, M. Meza, A. (2011).** “*Propiedades funcionales de las antocianinas*”. Revista de ciencias biológicas y de la salud, pp. 16-22.
- Almeida, J., (2012).** “*Extracción y Caracterización del Colorante Natural del Maíz Negro (Zea mays L.) Y Determinación De Su Actividad Antioxidante*” Proyecto de Investigación, Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria, Quito Ecuador. “La química está en todas partes” Revista digital ciencia y didáctica, Vol 25, Andalucía, España.
- Arrazola G. Herazo I. y Alvis A. (2013).** “*Obtención y Evaluación de la Estabilidad de Antocianinas de Berenjena (Solanum melongena L.) En Bebidas*” Universidad de Córdoba. Programa de Ingeniería de Alimentos. Facultad de Ingenierías. Grupo de Investigación Procesos y Agroindustria de vegetales, Colombia.
- Aroni, J. (2013).** “*Evaluación de la Estabilidad de Antocianinas presentes en los frutos de hesperomeles escalloniifoliaschldl (capachu), berberis cummutataeichler (huancachu), berberis humbertianaj.f. macbr (cheqche) y vacciniumflori bundumkunth (alaybili) frente al pH y temperatura*” Tesis de pregrado, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional José María Arguedas, Andahuaylas.
- Avila, R. y Carhuaricra, F. (2012).** “*Influencia de las operaciones enológicas sobre la actividad antioxidante del vino de Jaramulla (Vaccinium floribundum Kunth)*” tesis de pregrado, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Hermilio Valdizan, Huanuco.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (2000).** Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists (17th ed). Gaithersburg, MD: AOAC International.

- Badui, D. S. (1993).** *“Química de los Alimentos”*, Addison Wesley Longman de México, S. A. DE C. V. México D. F., México.
- Badui, S., (1988).** *“Química de los alimentos”*, Editorial Alhambra, p. 274- 284, Distrito Federal, México
- Barreiro, J. (2006).** *“Operaciones de conservación de Alimentos por bajas temperaturas”*. Editorial Equinoccio. Caracas, Venezuela.
- Brennan, J. (2008),** *“Manual del procesado de los alimentos”*, Editorial Acribia SA, Zaragoza, España.
- Cano, (2011).** *“Extracción y uso de tres pigmentos naturales a partir de Tomate de árbol (Solanumbetaceum Cav.), Mortiño (VacciniummytillusL.) y Mora de castilla (Rubusglaucus) como alternativa colorante natural para alimentos”*. Tesis de pregrado, Facultad de ciencias agropecuarias, Escuela politécnica, Sangolqui.
- Camacho, et. al., (2009).** En su investigación, *“Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos, Procedimientos para la toma, transporte y manejo de muestras de alimentos para su análisis microbiológico”*. Disponible en: [http://depa.pquim.unam.mx/amyd/archivero/TeCnicBasicas-Toma-de-uestras\\_6524.pdf](http://depa.pquim.unam.mx/amyd/archivero/TeCnicBasicas-Toma-de-uestras_6524.pdf).
- Cáceres, M. y otros. (2000).** *“Índice referencial de parámetros físicos-químicos y microbiológicos, necesarios para el registro de alimentos y bebidas, en el departamento de control de alimentos en el ministerio de Salud Pública y Asistencia Social”*. Trabajo de graduación. Facultad de Química y Farmacia, Universidad del Salvador.
- Carpenter, R. Lyon, D. y Hasdell T. (2009).** *“Análisis sensorial en el desarrollo y control de la calidad de alimentos”* Editorial Acribia, S. A. Zaragoza, España.
- Coultate, T. (1984).** *“Food: The chemistry of its components”*. Burlington House, The Royal Society of Chemistry. 113. Londres, Reino Unido.
- Cuevas, et al., (2008).** *“Análisis y caracterización de antocianinas en diferentes variedades de maíz (Zea mays) Boliviano”*. Revista red alfa lagrotech, pp. 79-95.

- Cuevas, M. (2008).** “Análisis y caracterización de antocianinas en diferentes variedades de maíz (*Zea mays*) boliviano. Red- Alfa. Ladrotech. Memorias. Comunidad Europea. Cartagena, Colombia”. Pp 79 – 95. Consultado 16 de marzo de 2014. Disponible en [http://educon.javeriana.edu.co/lagrotech/images/elyana\\_cuevas.pdf](http://educon.javeriana.edu.co/lagrotech/images/elyana_cuevas.pdf)
- Cubero, N., Monteferrer, A. y Villalta, J., (2002),** “Aditivos alimentarios” Colección tecnología de alimentos, Ediciones Mundi-prensa, Madrid, España.
- Centeno, M., (2003),** “Extracción, estabilización y evaluaciones analíticas del Camín” Centro de investigación en ciencia aplicada y tecnología avanzada, Instituto politécnico nacional, México D.F, México.
- Chávez, C. (2002).** “Extracción de Disolventes del Colorante Rojo de la Cochinilla (*Dctylopiuscoccus*): Caracterizacion y la Transferencia de Masa”, tesis de maestría, Maestro en Ciencias de Los Alimentos, México.
- Cuevas, E., Antezana, A. y Winterhalter, P.,(2008).** “Análisis caracterización de antocianinas en diferentes variedades de maíz (*Zea mays*) boliviano”. Universidad Mayor San Simón de Cochabamba, Cochabamba, Bolivia.
- Durst, R. (2001),** separation and characterization of anthocyanins by HPLC. In Handbook of Food Analytical Chemistry. John Wiley & Sons. Pp. 33 – 45. Nueva Jersey, NJ, EEUU.
- Espinoza, E. (2009).** “Elaboración sensorial de los alimentos”, Tacna Perú.
- Fennema, O.R. (2000).** “Química de los Alimentos.” España, Editorial ACRIBIA, S.A. ZARAGOZA (España), pp1255.
- Fuentes, W. (2005).** “Extracción, cuantificación y estabilidad de colorantes naturales presentes en los frutos de *PrunuscapuliCav.* (Cereza), *RubusurticaefoliusPoir.* (Mora) y *SambucuscanadensisL.* (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.

- Fenema, O.R. (2000).** “*Química de los Alimentos*”. España, Editorial ACRIBIA, S.A. ZARAGOZA (España), pp1255.
- Fennema, O., (1985).** “Introducción a la ciencia de los alimentos” Editoria Reverte S.A, Vol. 2, Barcelona, España.
- Fossen, T., Cabrita, L. y Andersen, O., (1998).** “Colour and stability of pure anthocyanins influenced by pH including the alkaline region”, Food Chemistry, <http://agrarias.tripod.com/cereales.htm>.
- Gonzalez, K. (2013).** “*Antocianinas en Maiz Azul, Evaluacion del Efecto de la Adicion de Cal y Calor a una Antocianina, La Pelargonidina*” .Tesis de pregrado, Facultad de Química, Química de los Alimentos, UNAM, México.
- Giusti, M., Wrolstad, R. y Poo, R. (2005).** Estabilidad de Antocianinas en Jugo y Concentradode Agraz (*Vaccinium meridionale Sw.*), Artículo Científico, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Facultad de Ciencias Básicas. Grupo de Catálisis. Avenida Norte Tunja. Boyacá, Colombia.
- Giusti, M. y Worlstad, R., (2001).** *Characterization and measurement with UVvisible spectroscopy*, Current protocols in food analytical chemistry, John Wiley & Sons, Inc., pp. 1-13.
- Grupo Latino, 2009,** “Volvamos al campo, manual del ingeniero de alimentos” Editorial Grupo Latina, p. 159, Colombia.
- Gutiérrez, Humberto y De la vara R., (2008).** *Análisis y diseño de experimentos*. 2da ed. México, Ed. McGraw –Hill interamericana editores S.A, 545p.
- Gimferrer, N. (2009)** CO<sub>2</sub>, el más eficiente gas conservador. Disponible en: <http://www.consumer.es.pdf>.
- Garzón, G. (2008).** *Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos*. (en línea). Bogota, Colombia. Universidad Nacional de Colombia. Consultado 09 de febrero 2014. Disponible en: <http://www.virtual.unal.edu.co/revistas/actabiol/PDF's/v13n3/v13n3a2.pdf>.

- Huayhua, T. (2008)** “*Antocianinas fenoles totales y actividad antioxidante en lka elaboración de una bebida refrescante a partir del extracto de tusa de maíz morado (Zea mays L.)*” tesis para optar el título profesional de Ingeniero de Industrial Alimentarias, Facultad de Ingeniería Metalurgia, Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho.
- Ibarz, A., Barbosa-Cánovas, G., (2005).** “Operaciones unitarias en la ingeniería de alimentos” Editorial Mundi-Prensa S.A, Barcelona, España.
- Kuehl, R. (2001).** “Diseño de experimentos”, 2da edición, México.
- Lfevre M.; Lee B.; Byun D.; Kim, (2006).** Anthocyanins inhibit lipogenesis of 3T3-L1 preadipocytes. IFT presentationnumber: 003.
- Leyva D. (2009).** “*Determinación de Antocianinas, Fenoles Totales y Actividad Antioxidante en Licores y Frutos de Mora*” tesis para obtener Título de Ingeniero en Alimentos, Universidad Tecnológica de la Mixteca, huajuapán de León, Oaxaca, Mexico, Setiembre del 2009.
- Mendoza C. G. (2012).** “*Las Antocianinas del maíz: su distribución en la planta y producción*” tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias, Colegio de Postgraduados de Recursos Genéticos y Productividad Genética, Montecillo. Texcoco Edo. De México (visitado en la página web [http://www.biblio.colpos.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/10521/1709/Mendoza\\_Mendoza\\_CG\\_MC\\_Genetica\\_2012.pdf?sequence=1](http://www.biblio.colpos.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/10521/1709/Mendoza_Mendoza_CG_MC_Genetica_2012.pdf?sequence=1)).
- Molina, A., (2009).** “La química está en todas partes”, Revista digital ciencia y didáctica, Vol 25, Andalucía, Epaña.
- Ribeiro, F. y P. (2006).** Stringheta, Microencapsulamiento de antocianinas. Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento 36.
- Santa Cruz, (2011).** “*Análisis Químico De Antocianinas En Frutos Silvestres Colombianos*” Tesis de postgrado, Facultad de ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Colombia.

- Sing, O. (1997).** *“Colorantes naturales”*, Fondo editorial de la pontificia universidad católica del Perú, Primera edición, Lima, Perú.
- Schwartz, S, (1998).** “Pigment analysis. Food Analysis: Introduction” Chemical analysis of foods, N° 6. Vol. 17: 846-847.
- Timberlake, C. (1986).** Plant pigments as natural food colours. Endeavour NS. 10:31-36.
- Tupayachi, A. (2013),** En su investigación menciona que según el herbario VARGAS CUZ (2013) y Cronquist (1981), compatibiliza con el grupo del sistema fitogenético de las angiospermas (Angiosperm Phylogen y Group, APG III (2009)), Facultad de Ciencias Biologicas, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. (Visitado en la página web <http://bi.unsaac.edu.pe/herbario.php?p=13>).
- Pérez, A., (2004),** “Alimento con color natural”, (Boletín Semanal n°28), p. 5.
- Pszczola, D. (1998).***Natural Colors: Pigments of imagination. FoodTechnology.* 52 (6). EE.UU.
- Pérez, et al., (2009).** “Estudio preliminar de trazas de aluminio en bebidas enlatadas carbonatadas comercializadas en el área metropolitana de san salvador”, Tesis de Graduación, Para optar al grado de licenciatura en química y farmacia, El Salvador, Centro América.
- Quintero, R., Mariano, G. y Lopez, A., 2002,** *“Biotecnología alimentaria”*, Editorial Limusa, México.
- 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.
- Ullauri, P., (2010).** *“Transporte de masa en extracción fase sólido-líquido”* Editorial Reciteia, Cali, Colombia.
- Yúfera, E. (1995).** *“Química orgánica básica y aplicada: de la molécula a la industria II”*, Editorial Reverte, Barcelona, España.

**Zeiger, E. y Taiz, L., (2006).** *“Fisiología vegetal”*, Colección ciencias experimentales, Vol 1, Castellón, España.

C:\Users\GARCIA\Desktop\Las antocianinas pueden reducir el riesgo de la enfermedad de Parkinson.htm (visitado el 30/06/14).

[http://es.scribd.com/doc/52456457/La historia de las bebidas carbonatadas](http://es.scribd.com/doc/52456457/La-historia-de-las-bebidas-carbonatadas). Disponible en:  
<http://es.scribd.com/doc/52456457/la-historia-de-las-bebidas-carbonatadas>.

Wep.<http://es.scribd.com/doc/52456457/la-historia-de-las-bebidas-carbonatadas>.

NTP 214.001 INDECOPI (ex – ITINTEC) BEBIDAS GASIFICADAS JARABEADAS.

Establece los requisitos que deben cumplir las bebidas gasificadas jarabeadas,

Requisitos 9 p.

NTP 214.002:1974 BEBIDAS GASEOSAS. Métodos de ensayo.

<http://es.slideshare.net/crism1/bebidas-carbonatadas>, visitado el 28/07/2014.

[http://catarina.udlap.mx/u\\_dl\\_a/tales/documentos/lqf/hernandez\\_m\\_a/capitulo1.pdf](http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lqf/hernandez_m_a/capitulo1.pdf),

UNIVERSIDAD SE LAS AMERICAS – PUEBLA 3013, CAPITULO 1, visitado el 23/09/2014.

## **ANEXOS**

**Anexo 1** Fotos de recolección de la materia prima



Foto 01: Fruto Capachu



Foto 02: Recolección del fruto



Foto 03: Recolección del fruto en campo

**Anexo 2** Fotos de las pruebas preliminares de la bebida gasificada colorante Antociánico, almacenados durante 6 meses.



Foto 04: Extracción preliminar del colorante Antociánico del fruto Capachu



Foto 05: Pruebas de la bebida elaborada con colorante Antociánico Capachu



Foto 06: Color de la bebida después de 6 Meses

**Anexo 3** Fotos de procesos de extracción del colorante Antociánico Capachu.



Foto 07: Selección de la materia prima



Foto 08: Secado de la Materia Prima



Foto 09: Molienda de la materia prima seca



Foto 10: Extracto Antociánico Capachu



Foto 11: Envasado del extracto Antociánico

**Anexo 4** fotos del proceso de elaboración y embotellado de la bebida gasificada con colorante

Antociánico en la Empresa Embotelladora Chanka S.R.L.



Foto 12: Preparación del Jarabe



Foto 13: Jarabeado



Foto 14: Jarabe envasado



Foto 15: Secuencia de gasificado

**Anexo 5** Fotos de almacenado a diferentes condiciones de Temperatura.



Foto 16: Almacenado a 7°C



Foto 16: Almacenado a 30 °C



Foto 16: Almacenado a 18°C (Ambiente)

Anexo 6 Desarrollo experimental de cuantificación y evaluación del colorante Antociánico en la  
bebida gasificada



Foto 17: Preparación de las muestras a evaluar con sus respectivos códigos



Foto 18: Cuantificación de Antocianinas



Foto 19: Lectura por Absorbancia

**Anexo 7** Lectura de la absorbancia por triplicado de la bebida gasificada con colorante

Antociánico Capachu para la cuantificación de las antocianinas

CUANTIFICACIÓN DEL TOTAL DE ANTOCIANINAS MEDIANTE EL MÉTODO DEL PH DIFERENCIAL-(Giusti y Wrolstad (2001))						
Absorbancia de la muestra (A) = [(A (520nm)-A (700nm)) pH 1.0] - [(A (520nm)-A (700nm)) pH 4.5]						
Bebida gasificada con colorante antocianico de CAPACHU ( <i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schldl)						
Muestra	pH 1.0		pH 4.5		Absorbancia de la muestra (A)	Promedio
	A(520 nm)	A(700 nm)	A(520 nm)	A(700 nm)		
<b>ax = 15 días</b>	<b>0,595</b>	<b>0,014</b>	<b>0,243</b>	<b>0,006</b>	<b>0,345</b>	
a1 = 7° C	0,597	0,015	0,249	0,005	0,338	0,345
a2 = 7° C	0,593	0,014	0,239	0,006	0,346	
a3 = 7° C	0,595	0,012	0,241	0,008	0,350	
<b>bx = 15 días</b>	<b>0,574</b>	<b>0,012</b>	<b>0,300</b>	<b>0,004</b>	<b>0,266</b>	
b1 = 18 °c	0,573	0,015	0,311	0,005	0,252	0,266
b2 = 18 °c	0,575	0,011	0,289	0,004	0,279	
b3 = 18 °c	0,574	0,010	0,300	0,002	0,266	
<b>Cx = 15 días</b>	<b>0,462</b>	<b>0,009</b>	<b>0,240</b>	<b>0,012</b>	<b>0,226</b>	
C1 = 30 °C	0,463	0,010	0,251	0,015	0,217	0,226
C2 = 30 °C	0,463	0,007	0,238	0,012	0,230	
C3 = 30 °C	0,461	0,009	0,230	0,010	0,232	

Contenido de Antocianinas (p/p) = ((A/E*I)*MW*DF*(V/Wt))										
Muestra	A	MW (mg/mol)	DF	E (L/cm*mol)	I (cm)	V (L)	Wt (g)	Antocianinas (p/p) (mg/g)	ACNs (mg/100g)	%
<b>ax = 15 días</b>	0,345	449600	2,333	26900	1	15000	125	1612,758	1290,207	12,902
a1 = 7° C	0,338	449600	2,333	26900	1	15000	125	1581,564	1265,251	
a2 = 7° C	0,346	449600	2,333	26900	1	15000	125	1618,997	1295,198	
a3 = 7° C	0,35	449600	2,333	26900	1	15000	125	1637,714	1310,171	
<b>bx = 15 días</b>	0,266	449600	2,333	26900	1	15000	125	1243,103	994,482	9,945
b1 = 18 °c	0,252	449600	2,333	26900	1	15000	125	1179,154	943,323	
b2 = 18 °c	0,279	449600	2,333	26900	1	15000	125	1305,492	1044,394	
b3 = 18 °c	0,266	449600	2,333	26900	1	15000	125	1244,663	995,730	
<b>Cx = 15 días</b>	0,226	449600	2,333	26900	1	15000	125	1059,055	847,244	8,472
C1 = 30 °C	0,217	449600	2,333	26900	1	15000	125	1015,383	812,306	
C2 = 30 °C	0,230	449600	2,333	26900	1	15000	125	1076,212	860,970	
C3 = 30 °C	0,232	449600	2,333	26900	1	15000	125	1085,570	868,456	

Datos:	Valor	Unidad
<b>A=</b> Absorbancia de la muestra		
<b>MW=</b> Peso molecular de la Cianidina-3-glucósido	449,6	g/mol
<b>DF=</b> Factor de dilución	2,333	
<b>V=</b> Volumen final	15000	L
<b>Wt=</b> Peso de la muestra	125	g
<b>E=</b> Absortividad molar de la Cianidina-3-glucósido	26900	L/cm*mol
<b>I=</b> Grosor de la cubeta	1	cm

$$\text{Absorbancia de la muestra (A)} = [(A(520\text{nm})-A(700\text{nm})) \text{ pH } 1.0] - [(A(520\text{nm})-A(700\text{nm})) \text{ pH } 4.5]$$

**Bebida gasificada con colorante antocianico de CAPACHU (*Hesperomeles escalloniifolia* Schlttdl)**

Muestra	pH 1.0		pH 4.5		Absorbancia de la muestra (A)	Promedio
	A(520 nm)	A(700 nm)	A(520 nm)	A(700 nm)		
<b>ay = 30 días</b>	0,574	0,008	0,287	0,007	0,287	
a4 = 7°C	0,574	0,006	0,287	0,006	0,287	0,287
a5 = 7°C	0,576	0,008	0,285	0,009	0,292	
a6 = 7°C	0,573	0,009	0,289	0,007	0,282	
<b>by = 30 días</b>	0,529	0,006	0,287	0,008	0,243	
b4 = 18 °C	0,531	0,004	0,289	0,009	0,247	0,243
b5 = 18 °C	0,521	0,008	0,278	0,006	0,241	
b6 = 18 °C	0,535	0,007	0,294	0,008	0,242	
<b>cy = 30 días</b>	0,438	0,021	0,264	0,022	0,175	
a4 = 30°C	0,437	0,021	0,244	0,024	0,196	0,175
a5 = 30°C	0,438	0,023	0,246	0,019	0,188	
a6 = 30°C	0,439	0,020	0,301	0,023	0,141	

**Contenido de Antocianinas (p/p) = ((A/E\*I)\*MW\*DF\*(V/Wt))**

Muestra	A	MW (mg/mol)	DF	E (L/cm*mol)	l (cm)	V (L)	Wt (g)	Contenido de Antocianinas (p/p) (mg/g)	Contenido de ACNs (mg/100g)	%
<b>ax = 30 días</b>	0,287	449600	2,333	26900	1	15000	125	1342,925	1074,340	10,743
a4 = 7°C	0,287	449600	2,333	26900	1	15000	125	1342,925	1074,340	
a5 = 7°C	0,292	449600	2,333	26900	1	15000	125	1366,321	1093,057	
a6 = 7°C	0,282	449600	2,333	26900	1	15000	125	1319,530	1055,624	
<b>bx = 30 días</b>	0,243	449600	2,333	26900	1	15000	125	1138,601	910,881	9,109
b4 = 18 °C	0,247	449600	2,333	26900	1	15000	125	1155,758	924,607	
b5 = 18 °C	0,241	449600	2,333	26900	1	15000	125	1127,683	902,146	
b6 = 18 °C	0,242	449600	2,333	26900	1	15000	125	1132,362	905,890	
<b>Cx = 30 días</b>	0,175	449600	2,333	26900	1	15000	125	818,857	655,086	6,551
a4 = 30°C	0,196	449600	2,333	26900	1	15000	125	917,120	733,696	
a5 = 30°C	0,188	449600	2,333	26900	1	15000	125	879,686	703,749	
a6 = 30°C	0,141	449600	2,333	26900	1	15000	125	659,765	527,812	

Datos:	Valor	Unidad
A= Absorbancia de la muestra		
MW= Peso molecular de la Cianidina-3-glucósido	449,6	g/mol
DF= Factor de dilución	2,333	
V= Volumen final	15000	L
Wt= Peso de la muestra	125	g
E= Absortividad molar de la Cianidina-3-glucósido	26900	L/cm*mol
l= Grosor de la cubeta	1	cm

Absorbancia de la muestra (A) = [(A (520nm)-A (700nm)) pH 1.0] - [(A (520nm)-A (700nm)) pH 4.5]						
Bebida gasificada con colorante antocianico de CAPACHU ( <i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltdl)						
Muestra	pH 1.0		pH 4.5		Absorbancia de la muestra (A)	Promedio
	A(520 nm)	A(700 nm)	A(520 nm)	A(700 nm)		
az = 45 días	0,503	0,003	0,234	0,008	0,274	
a7 = 7°C	0,504	0,003	0,233	0,007	0,275	0,274
a8 = 7°C	0,502	0,002	0,231	0,009	0,278	
a9 = 7°C	0,503	0,005	0,238	0,008	0,268	
bz = 45 días	0,475	0,008	0,285	0,006	0,188	
b7 = 18 °C	0,472	0,006	0,287	0,004	0,183	0,188
b8 = 18 °C	0,476	0,009	0,279	0,008	0,196	
b9 = 18 °C	0,477	0,010	0,288	0,005	0,184	
cz =45 días	0,375	0,015	0,253	0,021	0,128	
C7 =30°C	0,371	0,012	0,264	0,015	0,110	0,128
C8 =30°C	0,374	0,014	0,253	0,029	0,136	
C9 =30°C	0,379	0,018	0,242	0,019	0,138	

Contenido de Antocianinas (p/p) = ((A/E*I)*MW*DF*(V/Wt))										
Muestra	A	MW(mg/mol)	DF	E (L/cm*mol)	l (cm)	V(L)	Wt (g)	Contenido de Antocianinas (p/p) (mg/g)	Contenido de ACNs (mg/100g)	%
az = 45 días	0,274	449600	2,33	26900	1	15000	125	1280,536	1024,429	10,244
a7 = 7°C	0,275	449600	2,33	26900	1	15000	125	1286,775	1029,420	
a8 = 7°C	0,278	449600	2,333	26900	1	15000	125	1300,813	1040,650	
a9 = 7°C	0,268	449600	2,33	26900	1	15000	125	1254,021	1003,217	
bz = 45 días	0,188	449600	2,33	26900	1	15000	125	878,127	702,501	7,025
b7 = 18 °C	0,183	449600	2,33	26900	1	15000	125	856,290	685,032	
b8 = 18 °C	0,196	449600	2,333	26900	1	15000	125	917,120	733,696	
b9 = 18 °C	0,184	449600	2,33	26900	1	15000	125	860,970	688,776	
cz =45 días	0,128	449600	2,33	26900	1	15000	125	598,935	479,148	4,791
C7 =30°C	0,110	449600	2,33	26900	1	15000	125	514,710	411,768	
C8 =30°C	0,136	449600	2,333	26900	1	15000	125	636,369	509,095	
C9 =30°C	0,138	449600	2,33	26900	1	15000	125	645,727	516,582	

Datos:	Valor	Unidad
A= Absorbancia de la muestra		
MW= Peso molecular de la Cianidina-3-glucósido	449,6	g/mol
DF= Factor de dilución	2,333	
V= Volumen final	15000	L
Wt= Peso de la muestra	125	g
E= Absortividad molar de la Cianidina-3-glucósido	26900	L/cm*mol
l= Grosor de la cubeta	1	cm

Absorbancia de la muestra (A) = [(A (520nm)-A (700nm)) pH 1.0] - [(A (520nm)-A (700nm)) pH 4.5]						
Bebida gasificada con colorante antocianico de CAPACHU ( <i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltdl)						
Muestra	pH 1.0		pH 4.5		Absorbancia de la muestra (A)	Promedio
	A(520 nm)	A(700 nm)	A(520 nm)	A(700 nm)		
<b>aw = 60 días</b>	0,492	0,003	0,248	0,007	0,247	
a10 = 7 °C	0,492	0,003	0,251	0,008	0,246	0,247
a11 = 7 °C	0,491	0,005	0,246	0,007	0,247	
a12 = 7 °C	0,493	0,002	0,248	0,006	0,249	
<b>bw = 60 días</b>	0,458	0,007	0,312	0,009	0,148	
b10 = 18 °C	0,464	0,006	0,321	0,010	0,147	0,148
b11 = 18 °C	0,455	0,008	0,316	0,011	0,142	
b12 = 18 °C	0,456	0,007	0,299	0,006	0,156	
<b>cw = 60 días</b>	0,358	0,035	0,278	0,032	0,078	
C10 = 30 °C	0,357	0,045	0,278	0,032	0,066	0,078
C11 = 30 °C	0,359	0,032	0,276	0,034	0,085	
C12 = 30 °C	0,358	0,028	0,279	0,031	0,082	

Contenido de Antocianinas (p/p) = ((A/E*I)*MW*DF*(V/Wt))										
Muestra	A	MW (mg/mol)	DF	E (L/cm*mol)	I (cm)	V (L)	Wt (g)	Contenido de Antocianinas (p/p) (mg/g)	Contenido de ACNs (mg/100g)	%
<b>ax = 60 días</b>	0,247	449600	2,333	26900	1	15000	125	1157,318	925,854	9,259
a10 = 7 °C	0,246	449600	2,333	26900	1	15000	125	1151,079	920,863	
a11 = 7 °C	0,247	449600	2,333	26900	1	15000	125	1155,758	924,607	
a12 = 7 °C	0,249	449600	2,333	26900	1	15000	125	1165,117	932,093	
<b>bx = 60 días</b>	0,148	449600	2,333	26900	1	15000	125	694,079	555,263	5,553
b10 = 18 °C	0,147	449600	2,333	26900	1	15000	125	687,840	550,272	
b11 = 18 °C	0,142	449600	2,333	26900	1	15000	125	664,444	531,555	
b12 = 18 °C	0,156	449600	2,333	26900	1	15000	125	729,953	583,962	
<b>Cx = 60 días</b>	0,078	449600	2,333	26900	1	15000	125	363,417	290,733	2,907
C10 = 30 °C	0,066	449600	2,333	26900	1	15000	125	308,826	247,061	
C11 = 30 °C	0,085	449600	2,333	26900	1	15000	125	397,731	318,184	
C12 = 30 °C	0,082	449600	2,333	26900	1	15000	125	383,693	306,954	

Datos:	Valor	Unidad
<b>A=</b> Absorbancia de la muestra		
<b>MW=</b> Peso molecular de la Cianidina-3-glucósido	449,6	g/mol
<b>DF=</b> Factor de dilución	2,333	
<b>V=</b> Volumen final	15000	L
<b>Wt=</b> Peso de la muestra	125	g
<b>E=</b> Absortividad molar de la Cianidina-3-glucósido	26900	L/cm*mol
<b>I=</b> Grosor de la cubeta	1	cm

**Anexo 8** Fotos de análisis sensorial con panelistas seminternados



FOTO 19: Entrenamiento de los panelistas - grupo 1



FOTO 19: Entrenamiento de los panelistas - grupo 2



FOTO 19: Desarrollo de análisis sensorial

**Anexo 9** Ficha de análisis sensorial para sabor

ANALISIS SENSORIAL DE LA BEBIDA GASIFICADA CON COLORANTE ANTOCIÁNICO  
EXTRAIDO A PARTIR DEL FRUTO SILVESTRE CAPACHU

Panelista:.....Fecha:.....

Identifica la muestra de acuerdo al código con el que se te presenta y asignarle la calificación que consideres apropiada de acuerdo a la sensación del **SABOR** a la bebida gasificada.

RANGO:

- 1= muy agradable
- 2= agradable
- 3= poco agradable
- 4= nada agradable
- 5= desagradable

<u>CODIGO</u>	<u>RANGO</u>
.....	.....
.....	.....
.....	.....

**Anexo 10** Ficha de análisis sensorial para aroma

ANALISIS SENSORIAL DE LA BEBIDA GASIFICADA CON COLORANTE ANTOCIÁNICO  
EXTRAIDO A PARTIR DEL FRUTO SILVESTRE CAPACHU

Panelista:.....Fecha:.....

Identifica la muestra de acuerdo al código con el que se te presenta y asignarle la calificación que consideres apropiada de acuerdo a la sensación del **AROMA** a la bebida gasificada.

RANGO:

- 1= muy agradable
- 2= agradable
- 3= poco agradable
- 4= nada agradable
- 5= desagradable

<u>CODIGO</u>	<u>RANGO</u>
.....	.....
.....	.....
.....	.....

**Anexo 11** Ficha de análisis sensorial para color

**ANALISIS SENSORIAL DE LA BEBIDA GASIFICADA CON COLORANTE ANTOCIÁNICO  
EXTRAIDO A PARTIR DEL FRUTO SILVESTRE CAPACHU**

Panelista:.....Fecha:.....

Identifica la muestra de acuerdo al código con el que se te presenta y asignarle la calificación que consideres apropiada de acuerdo a la sensación del **COLOR** a la bebida gasificada.

RANGO:

1= muy agradable

2= agradable

3= poco agradable

4= nada agradable

5= desagradable

<u>CODIGO</u>	<u>RANGO</u>
.....	.....
.....	.....
.....	.....



FOTO 20: Bebida para análisis del color

## Anexo 12 Resultados del análisis sensorial de la bebida gasificada con colorante Antociánico

**Sabor:**

Tratamientos	PANELISTAS																	
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	SABOR
T1	2	2	1	2	2	2	3	1	2	2	3	2	2	2	2	2	3	2
T2	3	2	4	3	2	2	2	2	3	2	2	1	2	2	1	2	2	2
T3	3	2	2	2	2	3	3	2	1	3	2	2	1	1	1	2	3	2
T4	2	2	2	2	3	2	2	3	3	2	3	3	2	2	1	2	3	2
T5	3	2	2	3	4	3	3	3	2	3	2	2	3	3	1	3	2	3
T6	3	3	4	2	4	2	4	4	4	3	3	2	3	4	2	2	2	3
T7	2	3	2	3	1	2	3	3	3	2	3	3	2	2	1	2	2	2
T8	2	2	3	3	2	3	2	3	4	3	2	2	3	3	2	3	2	3
T9	3	4	3	4	4	2	2	4	4	3	3	2	3	4	2	4	2	3
T10	2	3	2	2	3	2	2	3	3	2	3	3	3	4	1	2	3	3
T11	3	3	4	4	4	3	3	3	4	3	2	2	3	3	2	3	2	3
T12	3	5	4	4	4	2	4	4	4	4	2	3	5	4	4	4	4	4
suma	34	33	33	34	35	28	33	35	37	32	32	26	30	35	28	31	30	525

**Aroma:**

Tratamientos	PANELISTAS																	
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	AROMA
T1	2	3	2	2	1	1	2	1	2	2	3	3	2	4	3	3	2	2
T2	3	2	3	2	2	2	2	2	1	2	2	2	3	3	1	2	2	2
T3	2	3	4	2	3	2	3	2	1	3	2	2	1	3	2	2	1	2
T4	1	3	3	3	1	2	2	2	3	3	3	3	2	2	3	3	2	2
T5	4	3	2	2	3	3	3	1	4	2	2	2	3	3	1	2	2	2
T6	3	2	2	3	4	2	3	2	3	1	2	2	1	3	2	2	1	3
T7	2	2	1	1	1	2	3	2	4	2	2	2	1	1	1	2	3	2
T8	2	2	1	3	1	2	2	1	4	2	2	2	3	3	1	2	2	2
T9	2	2	2	3	2	2	1	2	4	1	2	2	1	4	2	2	1	2
T10	2	2	2	3	1	2	2	2	3	3	3	3	2	4	3	3	2	2
T11	1	3	4	2	3	3	3	1	4	2	2	2	3	3	1	2	3	2
T12	2	4	2	3	4	4	2	3	2	4	1	2	2	3	3	2	3	1
suma	26	52	28	29	26	25	29	28	37	28	27	27	25	36	22	28	22	28

**Color:**

Tratamientos	PANELISTAS																	
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	COLOR
T1	2	3	2	2	1	1	2	1	2	2	3	2	2	2	2	2	3	2
T2	3	2	3	2	2	2	2	2	1	2	2	1	2	2	1	2	2	2
T3	2	3	4	2	3	2	3	2	1	3	2	2	1	4	4	2	3	3
T4	2	3	2	2	2	3	2	2	3	2	3	2	2	2	2	2	3	2
T5	2	2	2	3	3	2	2	2	4	2	2	1	2	2	1	2	2	2
T6	2	4	3	4	2	2	3	2	4	2	2	2	3	3	3	2	3	3
T7	3	2	2	2	2	2	3	2	3	2	3	2	2	2	2	2	3	2
T8	2	1	2	2	1	2	2	2	4	2	2	1	2	2	1	2	2	2
T9	3	4	3	4	4	2	2	4	4	3	3	2	3	4	2	4	2	3
T10	2	2	2	2	2	2	2	2	3	2	3	2	2	2	2	2	2	2
T11	3	3	3	3	3	3	2	2	4	2	3	1	2	2	1	2	2	2
T12	3	5	4	4	4	5	3	3	4	3	5	5	5	3	2	5	3	4
suma	29	34	32	32	29	28	28	28	37	27	33	23	28	30	23	29	30	29

### Anexo 13 Clasificación de los alimentos según su acidez.

Grupo según grado de acidez	Rango de pH	Grupo de alimentos
Grupo 1: poco ácidos	$\geq 5$	Productos cárnicos, Leche, Hortalizas
Grupo 2: semi ácidos	$4,5 \leq \text{pH} < 5,5$	Mezclas de carne, Vegetales, Sopas, Salsas
Grupo 3: ácidos	$3,7 \leq \text{pH} < 4,5$	Tomates, Peras, Higos, Piña, Otras frutas
Grupo 4: muy ácidos	$\text{pH} < 3,7$	Encurtidos, Pomelo, Zumo cítricos

Fuente: Citado por Ávila, (2012)

### Anexo 14 Análisis fisicoquímico proximal.

#### 1. DETERMINACION DE HUMEDAD (METODO DE LA ESTUFA DE AIRE:)

El método es aplicable a todos los productos alimenticios excepto los que puedan contener compuestos volátiles distintos al agua o los que son susceptibles a la descomposición a 100 °C como es el caso de vegetales frescos.

#### Materiales y equipos de laboratorio:

- Placa petri.
- Estufa
- Balanza

#### Procedimiento:

Pesar una placa y agregar 5 gramos de muestra, colocarlos en una estufa de 110 °C por 2 horas. Por la diferencia de pesos se obtiene la humedad luego se lleva a porcentaje. La determinación de materia seca se hace por diferencia de peso entre el peso inicial de la muestra (100%) y el porcentaje de humedad hallada, obteniéndose de esta manera y en forma directa el porcentaje de materia seca.

#### Cálculos:

1. Peso de la placa
2. Peso total = peso de la placa + peso de la muestra
3. Peso final= después que sale de la estufa.

$$\% \text{ humedad} = (\text{peso total} - \text{peso inicial}) \times 100 / \text{peso muestra, (AOAC 2000)}$$

Anexo 15 NTP para bebidas gasificadas.



*Tribunal Fiscal*

Nº 02190-A-2010

//////////...

El literal B.3, Rubro VII del citado Procedimiento señala que el personal encargado del Laboratorio Central remite al Área de origen correspondiente, el Acta de Extracción de Muestras y Transcripción de Rótulos o Etiquetas, o el Expediente según corresponda, y su documentación adjunta.

De otro lado, con relación a las normas técnicas, los artículos 18º y 26º del Decreto Ley Nº 25868, Ley de Organización y Funciones del Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual - INDECOPI<sup>9</sup>, establecen que la Comisión de Supervisión de Normas Técnicas, Metrología, Control de Calidad y Restricciones Paraarancelarias (Comisión de Reglamentos Técnicos y Comerciales) aprueban las Normas Técnicas.

Posteriormente, el Decreto Legislativo Nº 1030 aprobó la Ley de los Sistemas Nacionales de Normalización y Acreditación señalando que la autoridad competente para administrar el Sistema Nacional de Normalización es la Comisión de Normalización y de Fiscalización de Barreras Comerciales No Arancelarias del Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual (INDECOPI). Norma concordante con el artículo 2º de su Reglamento aprobado por Decreto Supremo Nº 081-2008-PCM que define por Norma Técnica Peruana al documento de carácter recomendable, aprobado por la Comisión de Normalización y de Fiscalización de Barreras Comerciales no Arancelarias, que establece, para un uso común y repetido, reglas o características para ciertas actividades o sus resultados, con el propósito de obtener un grado óptimo de orden en un contexto dado.

El Catálogo de Normas Técnicas Peruanas sobre Bebidas No Alcohólicas de la Clasificación Internacional de Normas ISC 67.160.20 (Beverage) de fecha 11 de mayo de 2007 es publicado por el Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual-INDECOPI<sup>10</sup>. En dicho catálogo se encuentra la Norma Técnica Peruana NTP 214.001:1985, titulada bebidas gasificadas jarabeadas, la cual establece los requisitos que se deben cumplir para ser consideradas bebidas gasificadas jarabeadas.

Este Tribunal en lo que respecta al análisis merceológico de diversos productos ha tomado en consideración los parámetros que establecen las normas técnicas peruanas aprobadas por la entidad correspondiente, teniendo en cuenta que las normas precitadas de los Procedimientos INTA-PE.00.03 y INTA-PE.00.09 no prohíben la utilización de normas técnicas y sus métodos pertinentes para desarrollar el análisis físico-químicos de las mercancías. De lo anterior, se concluye que es permisible utilizar la Norma Técnica Peruana 214.001/1985 a fin de establecer la clasificación arancelaria de los productos del Visto.

Por lo tanto, el Laboratorio Central de la Aduana o un laboratorio externo al que se encargue la Administración se encuentran facultados a utilizar los métodos<sup>11</sup> que resulten necesarios para analizar las muestras.

En el caso de autos, según se aprecia de las Cartas Nº 119-2007-SUNAT-3D0500 (foja 1887) y 120-2007-SUNAT-3D0500 (foja 1886), la Administración encargó a laboratorios externos la realización del análisis de las muestras de los productos del Visto, los Laboratorios de las empresas Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C. e International Analytical Services S.A.C. (INASSA).

//////////...

<sup>9</sup> Derogado por el Decreto Legislativo Nº 1033 aprobó la ley de organización y funciones del Instituto Nacional de la Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual – INDECOPI.

<sup>10</sup> [http://www.tvindecopi.gob.pe/pymes/bebidas\\_no\\_alcoholicas.pdf](http://www.tvindecopi.gob.pe/pymes/bebidas_no_alcoholicas.pdf). Consulta efectuada el 12 de febrero de 2010.

<sup>11</sup> Con Notificación Nº 118 3D0500-2007-000060 (foja 1003), recibido por la recurrente el 19 de setiembre de 2007, el establecimiento de qué método consideraba pertinente a fin que se determine el componente de nutraflora en los productos en mención, dio respuesta a dicho requerimiento sin indicar propuesta alguna.

**Anexo 16** Resultados del Análisis fisicoquímico proximal en la bebida gasificada con colorante Antociánico

a. Análisis después de 15 días de almacenando.

Muestra	Brix	pH	T°C	Presión (Psi) (kg/cm <sup>2</sup> )	Densidad ρ (g/ml)
<i>ax = 15 días</i>	6.20	3.58	7.13	25	1.035
<b>a1 = 7 °C</b>	6.20	3.55	7.10	26	1.033
<b>a2 = 7 °C</b>	6.19	3.58	7.17	25	1.035
<b>a3 = 7 °C</b>	6.20	3.60	7.12	25	1.036
<i>bx = 15 días</i>	6.13	3.48	18.05	26	1.034
<b>b1 = 18 °C</b>	6.17	3.48	18.09	26	1.034
<b>b2 = 18 °C</b>	6.12	3.47	18.04	25	1.034
<b>b3 = 18 °C</b>	6.11	3.49	18.02	26	1.035
<i>Cx = 15 días</i>	6.10	3.21	30.04	26	1.036
<b>C1 = 30 °C</b>	6.10	2.96	30.05	27	1.038
<b>C2 = 30 °C</b>	6.09	3.3	30.04	26	1.035
<b>C3 = 30 °C</b>	6.10	3.36	30.03	26	1.036

b. Análisis después de 30 días de almacenando

Muestra	Brix	pH	T°C	Presión (Psi) (kg/cm <sup>2</sup> )	Densidad ρ (g/ml)
<i>ay = 30 días</i>	6.14	3.45	7.07	25	1.034
<b>a4 = 7 °C</b>	6.14	3.42	7.03	25	1.034
<b>a5 = 7 °C</b>	6.13	3.47	7.12	25	1.033
<b>a6 = 7 °C</b>	6.15	3.47	7.07	26	1.034
<i>by = 30 días</i>	6.01	3.30	18.08	26	1.033
<b>b4 = 18 °C</b>	6.01	3.3	18.06	27	1.036
<b>b5 = 18 °C</b>	6.02	3.29	18.10	26	1.028
<b>b6 = 18 °C</b>	6.01	3.3	18.08	26	1.035
<i>cy = 30 días</i>	5.88	2.94	30.05	27	1.035
<b>a4 = 30 °C</b>	5.90	2.26	30.06	27	1.035
<b>a5 = 30 °C</b>	5.89	3.27	30.05	28	1.035
<b>a6 = 30 °C</b>	5.86	3.28	30.04	27	1.036

c. Análisis después de 45 días de almacenando.

Muestra	Brix	pH	T°C	Presión (Psi) (kg/cm <sup>2</sup> )	Densidad ρ (g/ml)
<i>az = 45 días</i>	6.01	3.32	7.04	25	1.033
<b>a7 = 7 °C</b>	6.00	3.35	7.04	26	1.033
<b>a8 = 7 °C</b>	6.01	3.32	7.04	25	1.034
<b>a9 = 7 °C</b>	6.02	3.30	7.03	25	1.033
<i>bz = 45 días</i>	5.70	3.24	18.10	27	1.032
<b>b7 = 18 °C</b>	5.60	3.25	18.08	26	1.030
<b>b8 = 18 °C</b>	5.60	3.21	18.15	27	1.034
<b>b9 = 18 °C</b>	5.90	3.27	18.10	28	1.032
<i>cz = 45 días</i>	5.73	3.16	30.03	28	1.034
<b>C7 = 30 °C</b>	5.68	3.18	30.01	27	1.034
<b>C8 = 30 °C</b>	5.74	3.10	30.07	28	1.034
<b>C9 = 30 °C</b>	5.78	3.20	30.01	28	1.034

d. Análisis después de 60 días de almacenando.

Muestra	°Brix	pH	T°C	Presion (Psi) (kg/cm <sup>2</sup> )	Densidad P (g/ml)
aw = 60 días	6.00	3.06	7.06	25	1.032
a10 =7 °C	6.00	3.06	7.06	25	1.031
a11 =7 °C	6.00	3.05	7.05	26	1.042
a12 =7 °C	6.00	3.06	7.07	25	1.024
bw = 60 días	5.55	3.07	18.07	27	1.031
b10 =18 °C	5.50	3.07	18.06	28	1.021
b11 =18 °C	5.56	3.07	18.04	27	1.032
b12 =18 °C	5.59	3.08	18.10	27	1.041
cw = 60 días	5.19	3.09	30.04	30	1.033
C10 =30 °C	5.20	3.09	30.02	30	1.029
C11 =30 °C	5.19	3.08	30.05	29	1.035
C12 =30 °C	5.18	3.09	30.04	30	1.034

Anexo 17 Fotos de Análisis fisicoquímico proximal en la bebida gasificada con colorante

Antociánico.



FOTO 20: Análisis de presión de gas



FOTO 21: Análisis de pH



FOTO 22: Análisis de solidos solubles

## Anexo 18 Longitud de onda $\lambda$ (nm) para bebidas gasificadas con colorante rojo.

**Universidad de Antioquia**  
F.Q.F. Ingeniería de Alimentos  
Lab. Análisis Instrumental

3. Determinación de Colorantes en Bebidas  
Profesor: Lucía Blánzon

$\lambda$ (nm)	A	
	Colorante	Gaseosa
560	0,3	1,044
570	0,235	0,806
580	0,167	0,551
590	0,117	0,355
600	0,106	0,28

De la tabla 1, se observan puntos máximos para absorbancia de ambas muestras entre 510 y 520 nm, por lo que se selecciona una  $\lambda = 515$  nm como longitud de onda óptima para la elaboración de la curva de calibración.

**Tabla 2. Resultados obtenidos (Curva de calibración)**

$\lambda = 515$	C (ppm)					Muestra (Gaseosa Uva)	
	2,1	4,2	8,4	12,6	21	Concentrada	Diluida
A	0,039	0,073	0,289	0,451	0,669	1,436	0,31

Dado que la absorbancia de la muestra inicialmente presentó un valor muy alto (1,436), por encima de los contenidos en la curva de calibración, se hizo una dilución de 10 mL de ésta en 50 mL de solución (unas cinco veces más diluida)

**Figura 1. Espectro de absorción**

La figura 1 permite concluir que el colorante utilizado en el laboratorio es el responsable de la coloración típica de la bebida gaseosa de marca comercial analizada ya que ambos presentan espectros semejantes, con mínimos y máximos que coinciden para las mismas longitudes de onda. En la gráfica se observa que el máximo de A se encuentra muy cercano a 520 nm, aunque durante la práctica se eligió  $\lambda = 415$  nm para la determinación de la curva de calibración.

**1. Objetivos:**

- Identificar y cuantificar colorantes en bebidas gaseosas a partir de espectro de absorción y curva de calibración.

**2. Materiales:**

- Espectrofotómetro
- Colorante patrón 2,1 mg
- Bebida gaseosa marca comercial (Uva Postobón)
- Agua destilada (para ajuste de cero)

**3. Método:**

- Se hicieron lecturas de valores de A para la solución madre (colorante diluido) y para la muestra problema (gaseosa-uva) en un rango de longitudes de onda ( $\lambda$ ) desde 400nm hasta 600nm (espectro de absorción)
- Luego de seleccionar la longitud de onda óptima ( $\lambda = 415$ nm) se hicieron lecturas de los valores de A para las diferentes concentraciones de colorante diluido y para la gaseosa (curva de calibración)

**4. Resultados y discusión:**

**Tabla 1. Resultados obtenidos (espectro de absorción)**

$\lambda$ (nm)	A	
	Colorante	Gaseosa
400	0,147	0,371
410	0,151	0,381
420	0,148	0,368
430	0,163	0,375
440	0,178	0,403
450	0,208	0,486
460	0,25	0,612
470	0,301	0,784
480	0,349	0,968
490	0,389	1,137
500	0,424	1,291
510	0,448	1,415
520	0,445	1,458
530	0,421	1,404
540	0,391	1,31
550	0,35	1,197

**Figura 2. Curva de Calibración**

Los datos obtenidos experimentalmente muestran un comportamiento lineal, representado por la línea de tendencia (en rojo). A partir del análisis estadístico (en ese caso se trabajó regresión lineal en calculadora) se obtienen los siguientes parámetros (ver cuadro 1):

$$A = a + bC \quad (1)$$

**Cuadro 1. Parámetros de la ecuación lineal para A Vs C.**

Parámetro	Significado	Valor
a	Intercepto con el eje	$-31,85 \times 10^{-3}$
b	Pendiente de la recta	$34,78 \times 10^{-3}$
r	Coefficiente-correlación	0,990
r <sup>2</sup>	Coefficiente-determinación	0,981

Luego, con el valor de absorbancia obtenido experimentalmente para la bebida gaseosa (0,31), y los parámetros a y b, se obtiene de la ecuación (1) que:

$$C' = 9,829 \text{ ppm}$$

Concentración correspondiente al colorante presente en la muestra de gaseosa diluida. Dado que se diluyeron 10 mL de gaseosa en 50 mL de solución, el factor de conversión es de 5. Finalmente

$$C = 5C' = 49,145 \text{ mg/L (ppm)}$$

**Concentración de colorante en la gaseosa Uva Postobón**

Con esta concentración de colorante, se puede conocer la cantidad del mismo que se consume en una gaseosa de 350 mL, tan solo con multiplicar C por dicho Volumen (en L)

$$mg_{colorante} = C \times V = 49,145 \times 0,350 = 17,200 \text{ mg}$$

Con respecto a la absorbancia y transmitancia, se hace la siguiente anotación: En la región visible apreciamos el color visible de una solución y que corresponde a las longitudes de onda de luz que transmite, no que absorbe. El color que absorbe es el complementario del color que transmite. Por lo anterior, se puede afirmar que si una sustancia (un colorante por ejemplo) es de color rojo (así lo vemos), y según el cuadro 2, dicha sustancia deberá tener una absorbancia máxima en el intervalo de longitud de onda de 490 a 580 nm.

**Cuadro 2. Longitudes de onda de la región visible**

longitud de onda aproximada	color de luz que se absorbe	color de luz que se refleja o ve
390 - 435	Violeta	Amarillo verdoso
435 - 490	Azul	Amarillo
490 - 580	Verde	Rojo
580 - 595	Amarillo	Azul
595 - 650	Naranja	Azul verdoso
650 - 780	Rojo	Verde azulado

**5. Conclusiones:**

- A partir de los espectros de absorción se puede identificar la presencia de un compuesto específico en una muestra de interés
- Las curvas de calibración son una herramienta muy útil para la cuantificación de un analito de interés en una muestra, siempre y cuando para dicho analito se cumpla la ley de Beer.
- Haciendo uso de los conceptos mencionados se logró cuantificar la cantidad de colorante presente en una muestra de bebida gaseosa de marca comercial (uva Postobón).
- En general, se alcanzaron los objetivos de la práctica.

**6. Referencias**

- Manual de laboratorio de Análisis Instrumental: Amally Guzman C.
- Espectrofotometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas, Universidad de Córdoba, España. Documento en línea. Disponible en [http://www.uco.es/organiza/departamentos/bioquimica-biol-mol/pdf/s/08\\_ESPECTROFOTOMETR%C3%8DA.pdf](http://www.uco.es/organiza/departamentos/bioquimica-biol-mol/pdf/s/08_ESPECTROFOTOMETR%C3%8DA.pdf) > Consultado en abril de 2013