UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA

FACULTAD DE INGENIERÍA DE PROCESOS INDUSTRIALES

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN INDUSTRIASALIMENTARIAS

"EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE EXTRACCIÓN DE ANTOCIANINAS DEL CCOMAYO (*Vaccinium floribundum* Kunth*)* POR EL MÉTODO SÓLIDO-LÍQUIDO"

Judith Condori Mamani

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE:

INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

Asesora: D.Sc. Elizabeth Huanatico Suarez

Co-asesor: M.Sc. Adaliht Jhony Arisaca Parillo

Juliaca – 2024

FICHA CATALOGRÁFICA

Condori J. (2022). *Evaluación de los parámetros de extracción de antocianinas del Ccomayo (Vaccinium floribundum* Kunth*) por el método solido-líquido.* [Tesis de pregado en Ingeniería, Universidad Nacional de Juliaca]. Juliaca.

AUTOR: Judith Condori Mamani

TÍTULO: Evaluación de los parámetros de extracción de antocianinas del Ccomayo (*Vaccinium floribundum* Kunth) por el método sólido-líquido.

PUBLICACIÓN: Juliaca, 2023.

DESCRIPCIÓN: Cantidad de páginas (92 pp)

NOTA: Tesis de la Escuela Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias-Universidad Nacional de Juliaca.

CÓDIGO: 03-000025-03/C74

NOTA: Incluye bibliografía

ASESOR DE TESIS: Dr.Sc. Elizabeth Huanatico Suarez

CO-ASESOR DE TESIS: M.Sc. Adaliht Jhony Arisaca Parrillo

PALABRAS CLAVES: Antocianinas, Ccomayo, Fenoles totales, Box behnken.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA

FACULTAD DE INGENIERÍA DE PROCESOS INDUSTRIALES

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN INDUSTRIASALIMENTARIAS

"EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE EXTRACCIÓN DE ANTOCIANINAS DEL CCOMAYO (*Vaccinium floribundum* Kunth) POR EL MÉTODO SÓLIDO-LÍQUIDO"

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

Presentada por:

Judith Condori Mamani

Sustentado y aprobado ante el siguiente jurado:

Dr. Julio Machaca Yana **PRESIDENTE DE JURADO**	
Mtra. Tania Jakeline Choque Rivera **JURADO (secretario)**	**2° MIEMBRO**
M. Sc. Lenin Quille Quille **JURADO (Vocal)**	**3° MIEMBRO**
D. Sc. Elizabeth Huanatico Suarez **ASESORA DE TESIS**	**M.Sc. Adalint Jhony Arisaca Parillo** **CO-ASESOR DE TESIS**

DEDICATORIA

A Dios,

por el inmenso amor que me brinda en esta vida.

A mi madre Esther,

por ser mi fortaleza e inculcar en mí el esfuerzo y valentía.

A mis hermanos Cristian Ever y Pether Ever,

por apoyarme y confiar en todo momento.

A mis ángeles Juan, Elvis y Diana,

por todo el amor brindado durante el tiempo compartido.

AGRADECIMIENTO

A mi madre por el esfuerzo que ha realizado y por ser padre y madre a la vez, estaré eternamente agradecida.

A mis hermanos porque me han brindado su apoyo, me enseñaron el valor del esfuerzo para así lograr mis metas.

A la Universidad Nacional de Juliaca en especial a la escuela profesional de ingeniería en industria alimentaria por la formación académica que me brindo.

A la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco por la facilidad que me brindo para poder ejecutar mi proyecto de tesis.

A la D. Sc. Elizabeth Huanatico Suarez y M.Sc. Adaliht Jhony Arisaca Parillo asesores de proyecto, por su apoyo, tiempo y orientación.

Al Servicio Nacional forestal y de Fauna Silvestre, por brindarme la información y orientación para investigar un fruto silvestre.

Al Sr. Olger Eder Chua Huarsoca vicepresidente de la comunidad de Pataquitum del distrito de Coasa-Carabaya-Puno.

A los jurados Dr. Julio Machaca Yana, Mtra. Tania Jakeline Choque Rivera y M. Sc. Lenin Quille Quille; por los concejos brindados para la culminación de mi trabajo de investigación.

A mis padrinos, Dr. Hilario Condori Mamani y Lic.Lola Carcasi Parisaca por el apoyo y motivación brindado durante el proceso de la ejecución del proyecto de investigación.

A doña Julia Loayza y Sr. Ferrer Tupac, por los concejos y motivación brindada.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA ii
AGRADECIMIENTO iii
ÍNDICE DE TABLAS vii
ÍNDICE DE FIGURAS viii
ÍNDICE DE ANEXOS x
RESUMEN xi
ABSTRACT xii

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. PLANTEAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DEL PROBLEMA 1
1.2. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN 2
1.2.1 Objetivo general 2
1.2.2 Objetivos específicos 2
1.3. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN 3

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES 4
2.1.1. Antecedentes Internacionales 4
2.1.2. Antecedentes Nacionales 5
2.2. MARCO TEÓRICO 7
2.2.1. Generalidades del Ccomayo 7
2.2.2. Clasificación Taxonómica 8
2.2.3. Variedades de *Vaccinium* 9
2.2.4. Clasificación del Arándano 10
2.2.5. Valor Nutricional 12
2.3. ANTOCIANINA 13
2.3.1. Estructura Química 14
2.3.3. Pigmentos Naturales en los Alimentos 16
2.3.4. Clasificación de pigmentos 16

2.3.5. Factores que Determinan la Estabilidad de la Antocianina 17
2.3.6. Antocianinas Como Colorantes Alimenticios 21

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. ÁMBITO DE ESTUDIO 24
3.1.1. Distribuciones Geográficas 24
3.1.2. Lugar de Ejecución 25
3.2. MATERIALES Y MÉTODOS 26
3.2.1. Materiales *26*
3.2.2. Equipos *26*
3.2.3. Reactivos *26*
3.2.4. Materiales *27*
3.2.5. Reactivos *28*
3.2.6. Metodología *28*
3.2.7. Metodología experimental *28*
3.2.8. Metología Experimental *32*
3.4. DISEÑO ESTADÍSTICO 37

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. CARACTERIZACIÓN DE LAS PROPIEDADES FÍSICO QUÍMICAS Y FUNCIONALES DEL FRUTO CCOMAYO (*VACCINIUM FLORIBUNDUM* KUNTH). 38
4.1.1. Caracterización de propiedades fisicoquímicas. *38*
4.1.2. Propiedades funcionales determinadas en el fruto Ccomayo (Vaccinium floribundum kunth). *40*
4.2. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE EXTRACCION DE ANTOCIANINAS DEL CCOMAYO (*VACCINIUM FLORIBUNDUM* KUNTH) INFERIDO POR EL (TIEMPO, TEMPERATURA Y pH). 42
4.2.1. Extracción etanolica (96°-agua destilada 50/50 v/v; y acuosa 100%) de antocianinas 43

4.2.2. Concentración de antocianinas por tratamiento con etanol 96°-agua destilada al 50/50. 45
4.2.3. Estimación de efectos para el proceso de extracción de antocianinas 47
4.2.4. Estimación de interacciones para la concentración de antocianinas 48
4.2.5. Desarrollo del modelo de regresión 50
4.2.6. Superficie de respuesta y gráfico de contorno de concentración de antocianinas 52

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES..... 59
5.2. RECOMENDACIONES 60
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 61
ANEXOS 66

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Variedades comerciales de arándanos 11
Tabla 2: Valor nutricional del arándano 13
Tabla 3: Estructura básica de la antocianina. 15
Tabla 4: Valores máximos y mínimos. 37
Tabla 5: Características fisicoquímicas del fruto Ccomayo 38
Tabla 6: Contenido de fenoles totales en el fruto Ccomayo. 40
Tabla 7: Contenido de antocianinas en el fruto Ccomayo (Vaccinium floribundum kunth). por método de extracción de etanol y medio acuoso. 43
Tabla 8: Matriz del diseño de Box-Behnken para la extracción etanólica y acuosa de antocianinas del Ccomayo. 44
Tabla 9: Coeficientes del modelo de regresión de segundo orden para la concentración de antocianinas obtenidas por extracción alcohólica y acuosa. 51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Fruto Ccomayo. 9
Figura 2: Vaccinium Corymbosum L. (Arándano) 10
Figura 3: Estructura química de la antocianina 14
Figura 4. Clasificación de compuestos fenólicos 16
Figura 5: Forma de equilibrio de las antocianinas en solución acuosa 18
Figura 6: Degradación de antocianina monoglucósido a pH 3,7 acelerada por el calor. 18
Figura 7: Efecto del pH en la estructura de las antocianinas 20
Figura 8. Estructura química de tipos de fenoles, polifenoles y flavonoides 23
Figura 9:Mapa de la provincia de Carabaya-Puno 24
Figura 10: Ubicación geográfica del distrito Coasa 25
Figura 11*:* Flujograma para la extracción de antocianinas con con etanol 96° C- agua destilada 50/50, agua destilada 100% del Ccomayo (*Vaccinium floribundum* Kunth). 29
Figura 12:Gráfico de comparación fisicoquímico del Ccomayo (Vaccinium floribundum kunth). 39
Figura 13: Perfil de antocianinas del Ccomayo. 40
Figura 14: Gráfico de caja para los compuestos fenólicos totales por tratamiento etanólico. 41
Figura 15: Gráfico de caja para los compuestos fenólicos totales por tratamiento acuoso. 42
Figura 16: Gráfico de barras para la concentración de antocianinas por tratamiento con etanol 96º-agua destilada al 50/50. 45
Figura 17: Gráfico de barras para la concentración de antocianinas por tratamiento con acuoso. 46
Figura 18. Diagrama de Pareto estandarizada para cantidad de antocianinas etanol 96° - agua destilada 50/50. 46
Figura 19. Diagrama de Pareto estandarizado para la cantidad de antocianinas por extracción acuosa 100%. 47
Figura 20: Gráfica de efectos principales para la concentración de antocianinas (Ee) por extracción alcohólica. 47

Figura 21: Gráfica de efectos principales para la concentración de antocianinas (Ea) por extracción acuosa. 48
Figura 22: Gráfica de interacción para la concentración de antocianinas (Ee) por extracción alcohólica. 49
Figura 23: Gráfica de interacción para la concentración de antocianinas (Ea) por extracción acuosa. 49
Figura 24: Efecto de la temperatura y tiempo para la concentración antocianinas (Ce) por extracción alcohólica. 53
Figura 25: Efecto de la temperatura y pH para la concentración antocianinas (Ce) por extracción alcohólica. 54
Figura 26: Efecto del tiempo y pH para la concentración antocianinas (Ce) por extracción alcohólica. 55
Figura 27: Efecto del temperatura y tiempo para la concentración antocianinas (Ca) por extracción acuosa. 56
Figura 28: Efecto del temperatura y pH para la concentración antocianinas (Ca) por extracción acuosa. 57
Figura 29: Efecto del tiempo y pH para la concentración antocianinas (Ca) por extracción acuosa. 58
Figura 30: Lugar de recolección de materia prima. 75
Figura 31: Recolección de materia prima 75
Figura 32: Fruto Ccomayo 75
Figura 33: Bayas de Ccomayo 75
Figura 34: Proceso de trituración del Ccomayo. 76
Figura 35: Proceso de filtración 76
Figura 36: Comparación a diferentes solventes 76
Figura 37: Espectrofotómetro 76
Figura 38: Almacenamiento de antocianinas extraídas 77
Figura 39: Viales para la evaluación de antocianinas 77
Figura 40: Soluciones acondicionadas para la extracción solido-liquido. 77

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 3: Identificación taxonómica del Ccomayo (Vaccinium floribundum kunth). ... 67
Anexo 4: Solicitud de autorización con fines de investigación a SERFOR. 68
Anexo 5: Autorización emitida por SERFOR**.** 69
Anexo 6: Acta de autorización del vicepresidente de la comunidad de Pataquitum. 70
Anexo 7: Plano perimétrico de ubicación UTM del proyecto. 71
Anexo 8: Tabla de Análisis de varianza para la concentración de antocianinas por extracción alcohólica 50/50. 72

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se evaluó los parámetros de extracción de antocianinas del fruto silvestre Ccomayo (*Vaccinium floribundum* Kunth), por el método sólido-liquido. El fruto Ccomayo recolectado en la comunidad de Pataquitum del distrito de Coasa-Carabaya del departamento de Puno. Los compuestos fenólicos y antocianinas se encuentran naturalmente en varios frutos y verduras de color. El extracto de Ccomayo, se extrajo en dos proporciones, en estado sólido - liquido (medio acuoso y medio etanólico), entre de 2 a 5 horas. Consiguientemente se determinaron las propiedades físico químicas mediante el método AOAC y el contenido de fenoles totales se definió por el método de Folin Ciocalteu. Posteriormente se evaluó la influencia de los parámetros, temperatura (30°C, 40°C y 50°C), pH (1, 3 y 5) y tiempo (2, 3.5 y 5 horas), en la extracción de antocianinas, se observó que todas las variables planteadas en el estudio tuvieron influencia en la cantidad de antocianinas totales extraídas, ya que la extracción más alta se alcanzó a una temperatura de 30°C, con un pH de 3 a un tiempo de 5 horas. Por último, definimos los fenoles totales con un valor de 217.5 EQ Acido Gálicomg/grfruto, y antocianinas en 5.12 de Extracto etanólico EtOH 50%mg/g respectivamente. El diseño estadístico empleado es el Box-Behnken, que consta de 15 tratamientos. Estos hallazgos conducirán potencialmente a una productividad de la industria procesadora de frutos, ya que podrían ser una alternativa para sustituir colorantes artificiales.

Palabras clave: Antocianinas, Ccomayo, Fenoles Totales, Box- behnken.

ABSTRACT

In the present research work, the anthocyanin extraction parameters of the wild Ccomayo fruit (*Vaccinium floribundum* Kunth) were evaluated by the solid-liquid method. The Ccomayo fruit collected in the Pataquitum community of the Coasa-Carabaya district of the department of Puno. Phenolic and anthocyanin compounds are found naturally in various colored fruits and vegetables. The Ccomayo extract was extracted in two proportions, in a solid-liquid state (aqueous medium and ethanolic medium), between 2 and 5 hours. Consequently, the physicochemical properties were determined by the AOAC method, and the total phenol content was defined by the Folin Ciocalteu method. Subsequently, the influence of the parameters, temperature (30°C, 40°C and 50°C), pH (1, 3 and 5) and time (2, 3.5 and 5 hours), on the extraction of anthocyanins, was evaluated. observed that all the variables raised in the study had an influence on the amount of total anthocyanins extracted, since the highest extraction was reached at a temperature of 30°C, with a pH of 3 at a time of 5 hours. Finally, we define the total phenols with a value of 217.5 EQ Gallic Acid/grfruit, and anthocyanins in 5.12 of Ethanolic Extract EtOH 50%mg/g respectively. The statistical design used is the Box-Behnken, which consists of 15 treatments. These findings will potentially lead to a productivity of the fruit processing industry, since they could be an alternative to replace artificial colorants.

Keywords: Anthocyanins, Ccomayo, Total Phenols, Box-Behnken.

INTRODUCCIÓN

Las antocianinas son pigmentos hidrosolubles, por lo que son fácil de incorporar en sistemas alimentarios acuosos, los diferentes estudios reportan que las antocianinas son estables en un rango de pH 2 – 4, estas cualidades hacen que estos pigmentos naturales sean atractivos, no sólo por su color, sino principalmente por su valor antioxidante, demostrando sus beneficios para la salud como cardiovasculares, el alzhéimer y algunas dolencias crónicas que resultan perjudiciales para la salud humana (Del Carpio, 2021).

En la actualidad al consumo y la producción de alimentos con alto valor nutritivo que genera mayor interés en las personas. Consiguientemente esto genera la adquisición de alimentos que contengan cantidades adecuadas de nutrientes esenciales, de esa manera se va contribuyendo a reducir el riesgo de padecer ciertas enfermedades ya mencionadas (Del Carpio, 2021).

Entre los pigmentos naturales de interés para la industria alimentaria, están las antocianinas y el fruto Ccomayo (*Vaccinium floribundum* Kunth), el cual se estudia en el presente trabajo de investigación, por sus características similares que tiene frente a los arándanos, las cuales pueden ser utilizadas para la extracción de dichos pigmentos y ser empleados como aditivos en la industria alimentaria (Garzón et al., 2010).

Zapata *et al.*, (2014), en su investigación explica el proceso de extracción sólido-líquido de antocianinas, por el cual optamos el método a emplear, esta extracción sólido-líquido se realizó en primera instancia con un solvente medio etanólico, y por otra parte se optó por un contenido total acuoso como solvente de extracción, donde las condiciones en las que se realizó el proceso fueron afectadas por las variables de tiempo, temperatura y pH.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. PLANTEAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

En los últimos años el interés por la alimentación funcional y la seguridad de los alimentos llevó a muchas empresas a revisar la información nutricional de sus productos y sustituir los colorantes artificiales por naturales, es así que Ibáñez *et al*. (2004), encuentran en diferentes estudios que los diversos colorantes sintéticos que se utilizan en los alimentos son causantes de posibles efectos adversos sobre la salud. En la actualidad los pigmentos naturales han adquirido un grado de importancia visible dentro de la industria alimentaria, ya que, con el paso del tiempo, investigaciones en toxicología de los alimentos han demostrado que estos pigmentos artificiales son perjudiciales para la salud de los consumidores mencionado por (Martínez, Martínez, Hurtado, Cuaran, y Ocampo, 2016).

Es bien sabido que la antocianina no se elimina fácilmente al ser absorbido en el tracto digestivo superior, donde la mayor parte alcanza el tracto intestinal y se sabe que la antocianina reduce el riesgo de enfermedades crónicas relacionadas al envejecimiento a través de la modulación del intestino microbiota; las mujeres son más vulnerables a desarrollar diversas enfermedades crónicas asociadas a la edad ,ya que tienen una peor calidad de vida, y más preocupaciones relacionadas con enfermedades coronarias y síntomas endocrinos, las antocianinas conllevan un papel importante en la prevención de enfermedades coronarias, cáncer, diabetes, además de sus efectos antiinflamatorios, mejoramiento de la agudeza visual y comportamiento cognitivo , referido por (Barragan, Aro, Huamani, y Cartagena, 2018).

El fruto Ccomayo (*Vaccinium floribundum* Kunth) se encuentra en pequeñas parcelas en la ceja de la selva del departamento de Puno, lamentablemente desaprovechados por la población que viven en el entorno, por el simple hecho de no tener conocimiento previo de las propiedades nutricionales y medicinales que brinda este fruto, ya que al ser pariente silvestre del arándano presenta características similares por el color de piel de este fruto siendo de color guindo, pero se desconoce su contenido de antocianinas, por tal motivo es de suma importancia identificar los parámetros de extracción y así constituirse en una nueva alternativa para reemplazar los colorantes sintéticos en la industria alimentaria, aludido por (Cano, 2011).

En base a las consideraciones anteriores se plantea las siguientes interrogantes:

1.1.1 Problema General

- ¿Se podrá evaluar los parámetros de extracción de antocianinas del Ccomayo (*Vaccinium floribundum* Kunth) por el método solido-liquido?

1.1.2. Problemas Específicos

- ¿Cuáles serán las características de las propiedades fisicoquímicas y funcionales del fruto Ccomayo (*Vaccinium floribundum* Kunth)?
- ¿Cuáles son los parámetros de extracción de antocianinas por el método del fruto Ccomayo (*Vaccinium floribundum* Kunth) por el método de extracción sólido-líquido?

1.2. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.2.1 Objetivo general

- Evaluar los parámetros de extracción de antocianinas del Ccomayo (*Vaccinium floribundum* Kunth) por el método sólido-líquido.

1.2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar las propiedades fisicoquímicas y funcionales del fruto Ccomayo (*Vaccinium floribundum* Kunth*).*
- Determinar los parámetros de extracción de antocianinas infligidos por el (Tiempo, temperatura y pH) del Ccomayo (*Vaccinium floribundum* Kunth).

1.3. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

En el presente trabajo de investigación se evaluaron los parámetros para la extracción de las antocianinas por el método sólido-líquido, utilizando como solvente un contenido acuoso total y medio etanólico, de tal modo poder aprovecharse mejor este fruto silvestre, conocido ruralmente como Ccomayo (*Vaccinium floribundum* Kunth), el fruto lo encontramos en el Distrito de Coasa.

Técnicamente el Ccomayo (*Vaccinium floribundum* Kunth), servirá para que en la industria alimentaria se tome conciencia de la salud de sus consumidores y puedan sustituir los colorantes nocivos y/o tóxicos que son perjudiciales para la salud humana, ya que estos contienen un grupo de compuestos responsables de generar la hipersensibilidad; por otro lado los pigmentos naturales contienen propiedades antiinflamatorias; ayudan a la disminución a padecer diabetes e impedir la formación de células tumorales, especialmente en el colon mencionado por (Jurado Dávila *et al*. 2020). Por tal motivo la tendencia de los consumidores hoy en día es sustituir los productos coloreados artificialmente por sus versiones naturales e incluso consideran que el costo es razonable para el bienestar de su salud (Del Carpio, 2021).

Socialmente con los resultados obtenidos , la población tendrá conocimiento de las propiedades presentes de este fruto, que actúan de manera preventiva frente a las enfermedades mencionadas anteriormente, donde se pueda posteriormente comercializar y de esta manera tener un impacto social y económico en la región especialmente en los sectores rurales (Meléndez *et al*. 2021).

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES

2.1.1. Antecedentes Internacionales

Meléndez *et al*. (2021), evaluaron las especies silvestres de *Vaccinium* mostrando poca variabilidad genética, a diferencia de las especies cultivadas. Por lo tanto, para cultivar las especies silvestres en el transcurso del año y de este poder obtener una producción de forma permanente, es necesario la domesticación, lo cual trata en realizar un análisis de las interacciones de microorganismos con la planta. La principal limitante del género *Vaccinium* son las enfermedades provocadas por los hongos, como Botrytis sp. y Hemileia vastatrix, por otro lado, también se encuentran microorganismos endófitos y de la rizosfera de *Vaccinium* que actúan de forma positiva facilitando la absorción de nutrientes, ofreciéndole seguridad contra las enfermedades e incluso cuidando la estructura del suelo. La diversidad genética de *Vaccinium floribundum* son realmente importantes que se deben estudiar para que de esa manera haya un programa de mejoramiento genético y de tal modo poder obtener su domesticación.

Ayelen *et al*. (2018) Evaluaron la digestión in vitro de compuestos bioáctivos de arándanos (Argentina) y dejaron claro que las antocianinas procedentes de los arándanos producen efectos beneficiosos para la salud de los consumidores. Existen métodos de análisis in vitro que permiten evaluar la solidez de las antocianinas en relación con la interacción de los diferentes componentes de las matrices alimentarias, el pH, la temperatura, presencia de inhibidores o

potenciadores de absorción y presencia de enzimas el trabajo realizado fue colocar a punto la metodología de digestión in vitro y evaluar la biodisponibilidad in vitro de antocianinas presentes en jugo de arándanos y un snack formulado con jugo de arándanos y manzana determinaron que si bien hay una pérdida de antocianinas durante el proceso digestivo, éstas son capaces de pasar todas las etapas y llegar al intestino, posibilitando la liberación controlada de estos antioxidantes presentes en el jugo de arándano y en el snack desarrollado.

Zapata *et al.* (2014), hicieron la optimización de la extracción de antocianinas de arándanos (España), se investigó la influencia de variables del proceso de extracción sólido-líquido de antocianinas de arándanos. Así, se logró obtener una combinación de variables que maximizó su recuperación: etanol acidificado con ácido cítrico al 1% como solvente de extracción, proporción materia prima/solvente 1:3 kg/kg, temperatura 36±1 ºC y tiempo de extracción 2 h. Desde la caracterización del extracto obtenido se obtuvo que la concentración de antocianinas totales fue de 879.0±12.9 mg cianidi- na-3-glucósido/100 mL, el contenido de fenoles totales de 1424±67 mg GAE/100 mL y la actividad antioxidante de 5730±103 y 4872±124 mg EAA/100 mL, medidos por los métodos ABTS y DPPH.

2.1.2. Antecedentes Nacionales

Del Carpio, (2021), en su investigación determinó el mejor solvente de extracción de antocianinas de los frutos de B. humbertiana y B. boliviana y evaluar el pH, color y actividad antioxidante de los yogures a los cuales se agregó el extracto liofilizado de una y otra especie. La extracción de las antocianinas se llevó a cabo con solventes de grado alimentario como etanol y agua acidificados con ácido cítrico. Los extractos etanólicos 96 acidificados con ácido cítrico (pH 3,5) y liofilizados de ambas especies de berberis fueron incorporados a muestras de yogurt comercial a las concentraciones de 80 y 100 mg/50 g de yogurt, estableciéndose que mantienen el pH ácido, logran una coloración muy idéntica a los yogures comerciales con una diferencia global de color (ΔE) menor a 10 y tienen mayor actividad antioxidante.

Aurora, (2015) en su investigación "Cinética de la degradación térmica de antocianinas en zumos pasteurizados de granada (Punica granatum) y arándano (*Vaccinium myrtillus*)" concluyeron que la degradación de las antocianinas en los zumos estudiados entre las temperaturas de 30ºC,40ºC, 50ºC, y 60 ºC, originó una cinética de degradación térmica de primer orden con una correlación y para el zumo pasteurizado de arándano (R 2= 0,990; 0,982; 0,988; 0,984) y zumo pasteurizado de granada (R 2=0,993; 0,991; 0,988 y 0,976) . Se concluyó que a la temperatura de almacenamiento mínima de esta investigación (30 °C) las constantes de velocidad de degradación de las antocianinas en ambos zumos fue inferior, a partir de estas constantes se ha obtenido tiempos de vida media que fueron $t1\ 2$ = 321 y 406 horas para el zumo de arándano y zumo de granada, respectivamente; de este modo se observó que las antocianinas presentes en el zumo de granada son altamente estables respecto a las antocianinas presentes en el zumo de arándano, esto también se confirmó al conseguir un valor menor de la energía de activación en el zumo de granada.

Alcántara y Ruiz, (2015), en su investigación "Cinética de la degradación de compuestos fenólicos y antocianinas en una bebida funcional a base de arándano azul (*Vaccinium corymbosum* l.)", concluyeron la cinética de degradación de una bebida funcional a base de arándanos edulcorado con stevia a temperaturas 30, 40 y 50 °C usando modelos de orden cero y primer orden; así mismo, se evaluó el modelo de Arrhenius para evaluar la dependencia de la velocidad de degradación con respecto a la temperatura. La concentración de compuestos fenoles fue 1299 mg de ácido gálico/L, y antocianinas 61 mg Cianidina-3-glucósido/L. La degradación de ambos compuestos estudiados, llevó una cinética de primer orden con una energía de activación de 13,4571 kcal/mol para fenoles y 12,7957 kcal/mol para antocianinas. Se estimó la degradación de dicho compuesto en la bebida sin stevia y con stevia a 50 °C, consiguiendo como resultado, que con stevia, los compuestos bioactivos incrementan y se conservan.

Aroni, (2013), en su Investigación "Evaluación De La Estabilidad De Antocianinas Presentes en los frutos de Hesperomeles escalloniifolia Schltdl (CAPACHU), Berberis cummutata Eichler (HUANCACHU), Berberis

humbertiana J.F. Macbr (CHEQCHE) Y *Vaccinium floribundum* Kunth (ALAYBILÍ) frente al pH Y Temperatura." indica que en el fruto de Hesperomeles escalloniifolia Schltdl (Capachu), la delfinidina 15,6670 %, cianidina 7,1910 %, petunidina 11,9153 %, peonidina 3,6915 % y malvidina 7,8487 %, y determina que el contenido de antocianinas en 3 muestras de los frutos estudiados varía de acuerdo a la especie vegetal en fruto seco sin semillas de Hesperomeles escalloniifolia Schltdl (Capachu) sostiene 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 esalloniifolia Schltdl (Capachu) presenta mejor estabilidad a una temperatura de 20 °C y 30 °C a pH de 3, en 30 días se diferenció en 4,53% la absorbancia. Por eso, recomienda estudios sobre estabilidad de los colorantes antociánicos.

Zambrano *et al*. (2011), en su investigación nombrado "Estabilidad de antocianinas en jugo y concentrado de agraz (*Vaccinium meridionale* Sw.)" analizó la cinética de la estabilidad térmica y de almacenamiento de las antocianinas en jugo y concentrado de agraz (*Vaccinium* cc Repositorio Institucional – UNAMBA - PERÚ - 9 de 79 - meridionale Sw.) prosiguiendo una cinética de primer orden. La degradación de las antocianinas con la temperatura fue modelada correctamente con la ecuación de Arrhenius. El efecto del pH en la estabilidad térmica de las antocianinas en los concentrados de agraz se estudió a seis diversos valores (3,0 – 8,0) en buffer citrato-fosfato. La degradación de las antocianinas fue elevada para el jugo que para el concentrado. Una disminución significante en la estabilidad de las antocianinas del concentrado se observó a pH cercano a 5,0.

2.2. MARCO TEÓRICO

2.2.1. Generalidades del Ccomayo

El Ccomayo (*Vaccinium floribundum* Kunth) crece en las alturas de los andes del altiplano de forma silvestre, son dulces en su estado de madurez, llevan una piel de color guindo oscuro y su diámetro esta alrededor de 4-8 mm.

2.2.2. Clasificación Taxonómica

El Ccomayo (*Vaccinium floribundum* Kunth) está ubicada dentro de la sección *Vaccinium* y se muestra en la siguiente posición**:**

Reino: *Plantae*
División: *Magnoliophyta*
Clase: *Magnoliopsida*
Orden: *Ericales*
Familia: *Ericaceae*
Sub familia: *Vacciniodeae*
Género: *Vaccinium*
Especie específico: *Floribundum*
Nombre común: *Ccomayo*

El Ccomayo, pertenece al orden Ericales, familia Ericaceae, género *Vaccinium*, especie *floribundum* y su nombre científico es (*Vaccinium floribundum* Kunth) el género Vaccinium L. tiene de 300 a 400 especies propias del hemisferio norte y de las montañas de las regiones tropicales de los Andes, sur de África y Madagascar; en el Perú, se encuentran nueve, de las cuales cinco son endémicas (Mostacero, Mejía, Gastañadui, y De La Cruz, 2017).

En la actualidad el Ccomayo (*Vaccinium floribundum* Kunth) aun no es domesticado por los pobladores de la zona, la floración de esta planta se da desde noviembre es cuando empieza la temporada de lluvia y el fruto se encuentra en estado de maduración desde febrero hasta el mes de abril, Meléndez *et al*. (2021), también indica que esta especie crece y se desarrollan entre los 1500 y 4700 m.s.n.m., en temperaturas que oscila entre 3 y 17 °C, suelos ácidos con un pH entre 4 y 5.

***Figura 1*: Fruto Ccomayo.**

2.2.3. Variedades de *Vaccinium*

- **Arándanos (*Vaccinium corymbbosum* L.)**

El *Vaccinium corymbosum* L. (Arándano) perteneciente una especie nativa del hemisferio norte, a la familia de las ericáceas. El arándano alto se caracteriza por desarrollarse una planta leñosa, perenne, alcanza una altura de 3 a 5 metros en estado adulto, con una vida comercial del orden de los 20 años, encontrándose en algunos huertos variedades con más de 30 años aun en producción (Alcántara y Ruiz, 2015).

Posee hojas alternas, de margen entero, de unos 5 cm de longitud, caducas, de forma lanceolada y color verde pálido. Su sistema radical es fibroso y superficial, tiene raíces finas y fibrosas que se caracterizan por la ausencia de pelos absorbentes. Las flores son pedunculadas, axilares o terminales, de color blanco, sépalos persistentes, formada por 4-5 pétalos fusionados, 8 a 10 estambres que están insertados en la base de la corola (Alcántara y Ruiz, 2015).

El Fruto: Es una baya casi esférica, que puede variar en tamaño de 0.7-1.8 cm de diámetro, contiene 5 lóculos que son delineados por una pared de células simples, lo que constituye el endocarpio. Los frutos a medida que maduran, pasan por distintos grados de color hasta llegar al tono azul característico al final

de la maduración, como se muestra en la figura N°4; las semillas en su interior pueden variar entre 20 a 100 cuyo número está relacionado con el tamaño del fruto (Meléndez *et al*. 2021).

***Figura 2*: *Vaccinium Corymbosum* L. (Arándano)**

FUENTE: Meléndez *et al*. (2021)

Los arándanos cultivados se diferencian básicamente en su comportamiento con respecto al frío, la necesidad de horas frío para levantar su latencia invernal, su resistencia a las bajas temperaturas tanto a las heladas invernales como a las primaverales (en zonas tardías o cálidas). Las variedades comerciales son el resultado de programas de mejoras (Selung *et al*. 2014).

2.2.4. Clasificación del Arándano

Clasificación Descripción:

Reino: *Plantae*

División: *Pterophytas*

Clase: *Dicotiledonea*

Sub clase: *Dilleniidae*

Orden: *Ericales*

Familia: *Ericaceae*

Subfamilia: *Vaccinioidea*

Tribu: *Vaccinieae*

Genero: *Vaccinium*

Especie: *Vaccinium corymbosum* L.

Existen 30 especies del género *Vaccinium*, pero solo un pequeño grupo tienen importancia comercial. Existen 3 especies que tiene importancia económica: el *Vaccinium angustifolium* (Arándano bajo) o "lowbush", el *Vaccinium corymbosum* L. (Arándano alto) o "highbush" y el *Vaccinium* ashei Reade (Arándano ojo de conejo) o"rabbiteye"(Meléndez *et al*. 2021).

Tabla 1. ***Variedades comerciales de arándanos***

Categorías		
Especies	**Nombre Común**	**Requerimiento Frío**
V. Corymbosum L.	Arándanos Altos del Norte (Highbush)	800-1000 H.F.
V. Corymbosum L. y *V. darrowi*	Arándanos Altos del Sur	200-400 H.F. (a veces 600 H.F.)
V. angustifolum y *V. myrtilloides*	Arándanos Bajos	Requerimiento menos en H.F.
V. vigratum y *Vashei Reade*	Arándanos Ojo de Conejo (Rabbiteye)	400-800 H.F.
V. Corymbosum L. y *V. Angustifolium*	Arándanos Medios-Altos	Requerimientos menores de frío

FUENTE: Selung *et al* (2014).

- ***Vaccinium angustifolium*;** V. myrtilloides (Lowbush), se encuentra principalmente en forma silvestre, ha sido un gran aporte en la obtención

de clones mejorados de arándano alto, este arándano requiere de mayores horas de frio acumuladas que los otros arándanos.

- ***Vaccinium corymbosum* (Highbush):** Es nativo del noroeste de Norte América, representa el 75% del total de arándano que se cultiva a nivel mundial.

- ***Vaccinium ashei* (Rabbiteye):** Es nativo del sureste de Estados Unidos, este tipo de arándano requiere de polinización cruzada por ser parcialmente auto-estéril, posee mayor cantidad de frutos y estos tienen mayor duración post cosecha.

2.2.5. Valor Nutricional

Se presenta el valor nutricional del *Vaccinium corymbosum L.* (Arándano). Es bajo en calorías, grasas y sodio, mientras que posee un alto contenido en fibra y es rico en minerales como el potasio magnesio y manganeso, según Loor (2016), el arándano, es muy eficiente para la salud diaria de las personas por que contiene nutrientes que en la dieta sirven para fortalecer la capacidad de la memoria, mejora en el rendimiento a nivel cerebral y ayuda en la comunicación entre células.

Los arándanos contienen varios compuestos fenólicos, como flavonoides, ácidos fenólicos, taninos y estilbenos. El alto antioxidante se le puede atribuir el potencial del extracto de arándano rico en compuestos fenólicos y constituyentes minerales esenciales. Los polifenoles son micronutrientes abundantes en nuestra dieta, y han sido grupo polifenólico natural en arándanos, tiene varios beneficios para la salud efectos Se ha aceptado ampliamente que los polifenoles de la dieta, especialmente la antocianina, puede modular la microbiota intestinal (Barragan *et al*. 2018).

Tabla 2:*Valor nutricional del arándano*

Componente	Contenido	Componente	Contenido
Agua	82 – 85 g	Zinc	0.11 mg
Calorías	55 Kcal	Cobre	0.06 mg
Proteína	0.7 g	Manganeso	0.27 mg
Grasas	0.37 g	Ácido Ascórbico	13 mg
Carbohidratos	14 g	Tiamina	0.05 mg
Fibra	1.3 g	Rivoflavina	0.05 mg
Sodio	6 mg	Niacina	0.35 mg
Calcio	6 mg	Ácido pantotenico	0.09 mg
Potasio	86 mg	Ácido fólico	6.2 mg
Hierro	0.16 mg	Vitamina B6	0.03 mg
Fosforo	10 mg	Vitamina	97 IU
Magnesio	4.7 mg		

FUENTE: Cuarite (2015)

Los arándanos contienen varios compuestos fenólicos, como flavonoides, ácidos fenólicos, taninos y estilbenos. El alto antioxidante se le puede atribuir el potencial del extracto de arándano rico en compuestos fenólicos y constituyentes minerales esenciales. Los polifenoles son micronutrientes abundantes en nuestra dieta, y han sido grupo polifenólico natural en arándanos, tiene varios beneficios para la salud efectos Se ha aceptado ampliamente que los polifenoles de la dieta, especialmente la antocianina, puede modular la microbiota intestinal (Barragan *et al*. 2018).

2.3. ANTOCIANINA

La palabra antocianina se deriva de las palabras griegas '*anthos*' y '*kyanos*' que significan flor y azul respectivamente (Ahmad, 2022). Las antocianinas son glucósidos de antocianinas estos glucósidos presentes casi siempre la glucosa presente en la molécula en la posición 3-hidroxilo del anillo C, y cuando la

antocianina tiene más de un glucósido la segunda posición del enlace es la posición 5. Las antocianinas se E ampliamente en alimentos de origen vegetal y, como las antocianinas, son responsables de la coloración de los frutos y flores junto con los taninos, y antocianos son responsables del color rojo de los vinos añejos que son utilizadas en la industria de alimentos como colorantes naturales, y se enumeran en el Codex Alimentarius bajo el código E169, las capacidades antioxidantes de las antocianinas se asocian como compuestos beneficiosos para la salud.

Por ejemplo, su consumo se ha asociado con la prevención de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo, como la enfermedad cardíaca coronaria y el cáncer (Luis, 2014).

2.3.1. Estructura Química

Las antocianinas son glucósidos de antocianinas constituido por dos anillos aromáticos, A y B, unidos por una cadena de tres átomos de carbono. Variaciones estructurales del anillo B producen las seis antocianinas conocidas (Cano, 2011).

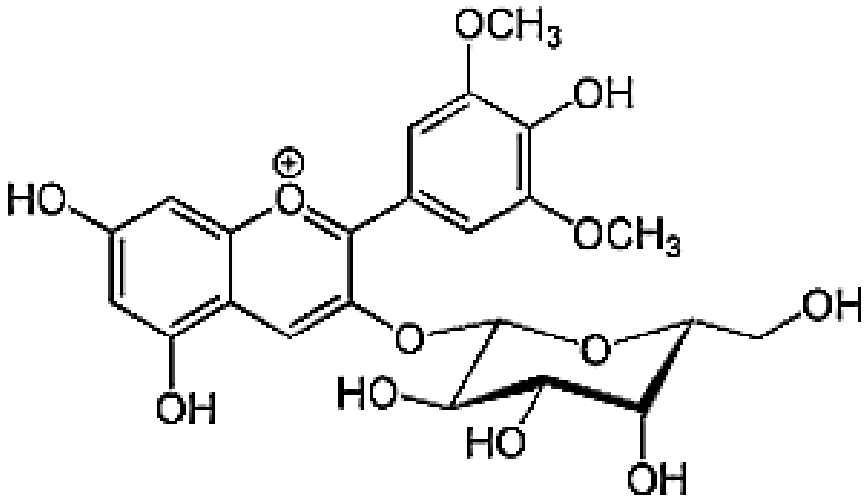


***Figura 3*: Estructura química de la antocianina**

FUENTE: Martínez *et al*. (2016).

Cuando se hidroliza una antocianina la fracción no azúcar de esta (la aglicona) se conoce como antocianidina, la cual contiene dobles enlaces conjugados responsables de la absorción de la luz alrededor de 500 nm causando que los pigmentos aparezcan rojos al ojo humano (Cano,2011).

En la Tabla 3 se muestra las estructuras básicas y sustituyentes de las antocianinas (Zapata *et al*. 2014).

2.3.2. Actividad biológica de las antocianinas

Las antocianinas son de interés por dos razones, la primera por su impacto sobre las características sensoriales de los alimentos, estas razones pueden influenciar en su comportamiento tecnológico durante el procesamiento de alimentos, y la segunda, por su participación en la salud humana a través de sus diferentes vínculos. Los pigmentos antociánicos se ha intensificado en la actualidad debido a sus propiedades terapéuticas durante el paso del tracto digestivo las antocianinas permanecen intactas y causa una reacción de efectos terapéuticos conocidos que permiten la reducción de enfermedades cancerígenos, tumorales, inflamatorios y diabéticos estos efectos terapéuticos de las antocianinas están relacionados con su actividad antioxidante existen estudios con fracciones de antocianinas han demostrado que estas son efectivas para atrapar especies reactivas del oxígeno, además de inhibir la oxidación de lipoproteínas y la agregación de plaquetas

Tabla 3: ***Estructura básica de la antocianina.***

	Sustituyentes		**Max(nm)**
Aglicona	R1	R2	Espectro visible
Pelargonidina	H	H	494 (naranja)
Cianidina	OH	H	506 (naranja-rojo)
Delfinidina	OH	OH	508 (azul-rojo)
Peonidina	OCH3	H	506 (naranja-rojo)
Petunidina	OCH3	OH	508 (azul-rojo)
Malvinidina	OCH3	OCH3	510 (azul-rojo)

FUENTE: Zapata *et al*. (2014)

2.3.3. Pigmentos Naturales en los Alimentos

En la mayoría de los pigmentos naturales, se encuentran las antocianinas, estas se localizan en el protoplasma de las células, se pueden observar con el microscopio, ya que forman pequeñas placas en algunos casos, cuando son solubles en agua, se ubican disueltos en las vacuolas de las células algunos de ellos son hidrosolubles y su separación y aislamiento se facilita considerablemente, otros sólo se solubilizan en disolventes orgánicos como hexano y éter (Badui Dergal, 2006).

2.3.4. Clasificación de pigmentos

La Figura 4 muestra la clasificación de pigmentos que se pueden emplear en la industria alimentaria.

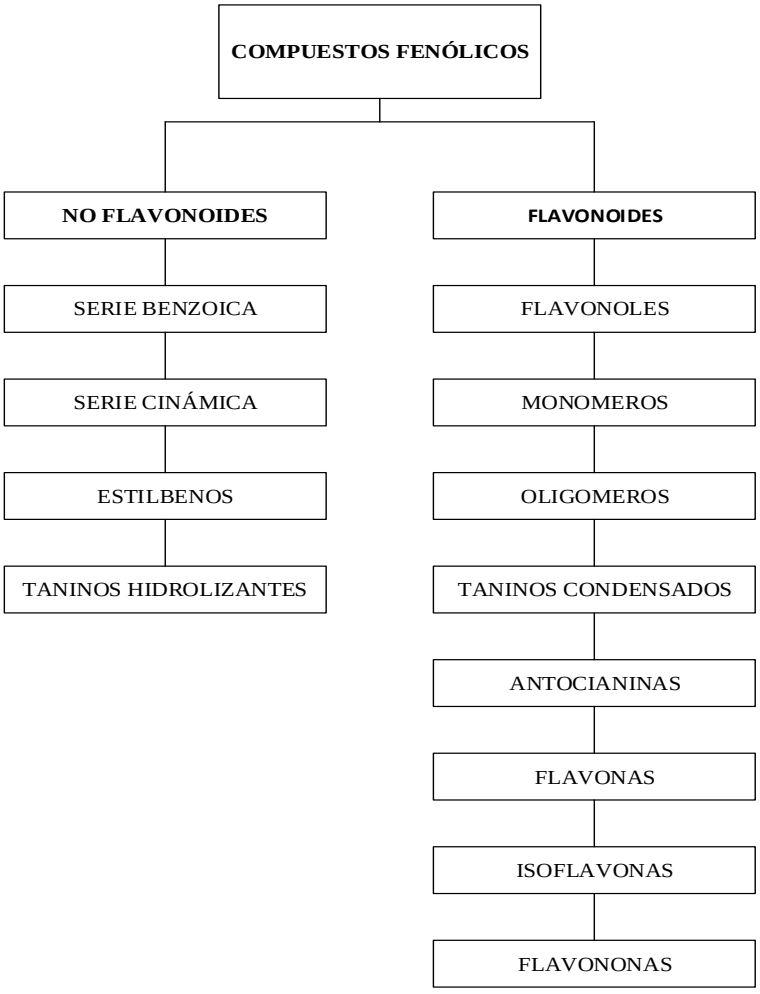


***Figura 4*. Clasificación de compuestos fenólicos**

FUENTE: Limaymanta y Ramos (2016)

2.3.5. Factores que Determinan la Estabilidad de la Antocianina

Las antocianinas ofrecen ventajas como sustitutos de los colorantes artificiales, su incorporación en la industria alimentaria, farmacéutica y de cosméticos se limita debido a su baja estabilidad durante el procesamiento y el almacenamiento (Zapata *et al*.2014).

Factores químicos que determinan el color y la estabilidad de las antocianinas:

- **Enzimas**

Se han identificado dos grupos de enzimas implicadas en la decoloración de las antocianinas: glicosidasa y polifenoloxidasa, en conjunto se les conoce como antocianasas. Las glicosidasas hidrolizan los enlaces glucosídicos, dando el azúcar o azúcares y la aglicona. La pérdida de intensidad de color se debe al descenso de la solubilidad de las antocianidinas y su transformación en productos incoloros. Las polifenoloxidasas actúan en presencia de o-difenol a o-benzoquinona, que a su vez reacciona con las antocianinas por un mecanismo no enzimático para formar antocianinas oxidadas y productos de degradación (Castro, 2018).

- **Temperatura**

Los tratamientos térmicos afectan 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 respecto a la temperatura debido a su alta hidrosolubilidad, estos pigmentos se pueden perder fácilmente por lixiviación en el agua que se utiliza en los diferentes tratamientos; a medida que incrementa la temperatura se acelera la decoloración de la fruta, ya que se favorece tanto la extracción que incluso se puede llegar a obtener productos prácticamente incoloros, las características dentro de la estructura que conducen a un aumento de la estabilidad frente a cambios de pH también llevan a la estabilidad térmica (Limaymanta y Ramos, 2016).

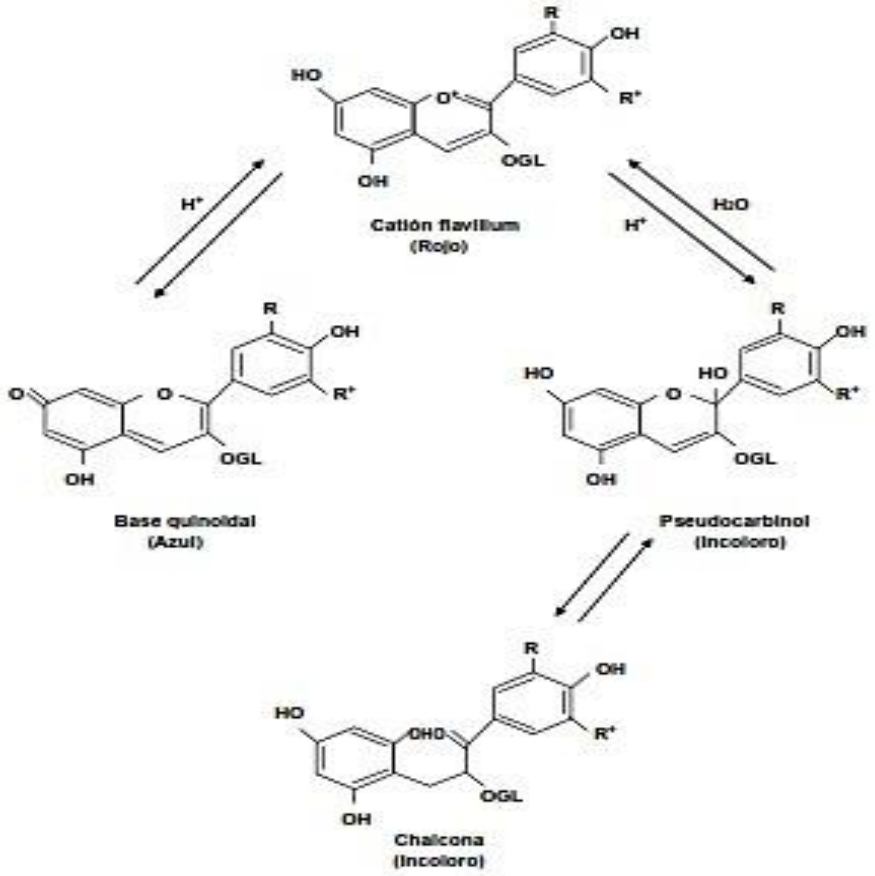


Figura 5: **Forma de equilibrio de las antocianinas en solución acuosa**

FUENTE: Castro (2018)

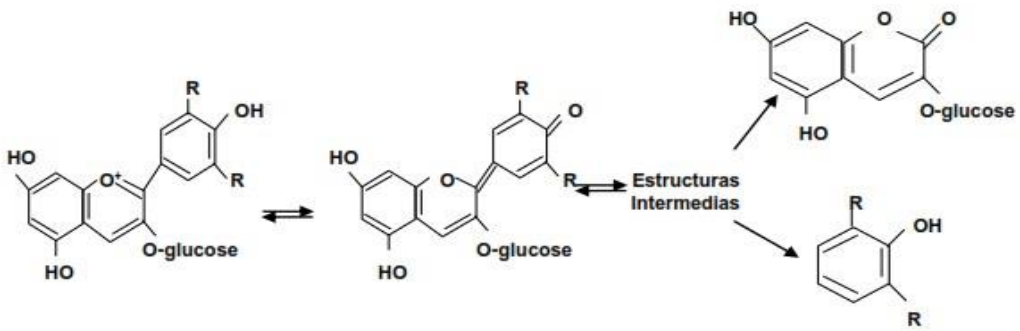


Figura 6: **Degradación de antocianina monoglucósido a pH 3,7 acelerada por el calor**

FUENTE: Castro (2018)

- **La luz**

La luz es un factor que acelera la degradación de las antocianinas. En estudios se ha demostrado que la sustitución del hidroxilo en el C-5 hace que la antocianina sea más susceptible a la fotodegradación cuando ésta se presenta con flavonas polihidroxiladas, isoflavonas y auronas sulfonadas (Zapata *et al*. (2014).

- **Azucares**

Los azúcares a altas concentraciones, como ocurre en las conservas de frutas, estabilizan las antocianinas. Este efecto se cree que es debido a la disminución de la actividad de agua cuando los azúcares están presentes en condiciones lo suficientemente bajas como para tener poco efecto sobre la actividad del agua (Aw), ellos o sus productos de degradación pueden acelerar la degradación de las antocianinas (Badui Dergal, 2006).

La velocidad de degradación de la antocianina sigue la velocidad de degradación del azúcar a furfural. el furfural, que se deriva de las aldopentosas, y el HMF, que es un derivado de las cetohexosas, resultan de la reacción de Maillard o de la oxidación del ácido ascórbico. Estos compuestos se condensan fácilmente con las antocianinas, formando compuestos pardos (Castro, 2018).

- **El pH**

Debido a una deficiencia del núcleo del flavilio, estos pigmentos funcionan como verdaderos indicadores de pH; el color depende de las condiciones de acidez o alcalinidad del sistema en que se encuentran: a pH ácido adquiere una estructura estable del catión flavilio de color rojo, representado por la fórmula (AH+); cuando se incrementa el pH, la distribución electrónica se modifica hasta llegar a la forma quinoidea azul (A) o base anhidra; tanto la sal del flavilio como la base anhidra pueden convertirse a la base del carbinol incolora (B) , las antocianinas tienen cambios importantes de color con las variaciones de pH, cuando el pH es ácido su color es rojo intenso mientras que a pH neutro se encuentra de manera incolora y a pH alcalino su coloración es amarilla y pasa

posteriormente a ser azul que predomina en el intervalo de pH de 4 a 5 (Parisa, Reza, Elham, y Rashid, 2007).

A continuación, en la Figura 7, se muestra el comportamiento de la antocianina a diferentes pH′s.

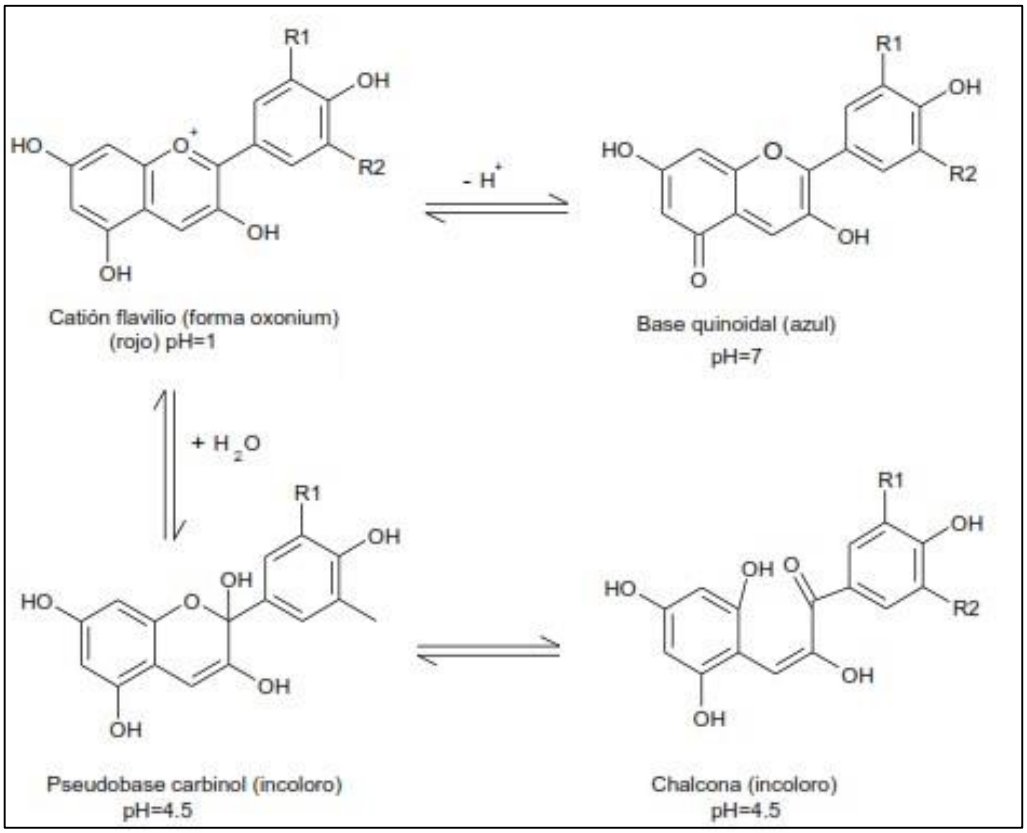


Figura 7: **Efecto del pH en la estructura de las antocianinas**

FUENTE: Castro (2018)

- **El Oxigeno**

La estabilidad de las antocianinas depende de la presencia del oxígeno ya que este agranda el impacto de degradación, la mezcla del oxígeno con la temperatura del medio ambiente incrementa la inestabilidad (Limaymanta y Ramos, 2016).

- **Efecto de enzimas**

Cuando la integridad del tejido se daña, las enzimas como polifenoloxidasas, peroxidasas, glicolasas y estearasas degradan a los compuestos fenólicos, para transformar a los substratos incoloros en pigmentos amarillos a través de

oscurecimiento enzimático. Aunque las antocianinas no reaccionan fácilmente con las polifenoloxidadas de las plantas, sí reaccionan con las o-quinonas producidas por la oxidación enzimática de fenoles a través de la formación de quinonas. Las peroxidasas afectan a las antocianinas por ruptura que causa al anillo heterocíclico al degradarse rápidamente cuando existe catecol, ya que al transformarse en o-quinona, oxida estos colorantes. Las glucosidasas rompen la unión del aglucón, lo que genera compuestos incoloros. Otra causa de las pérdidas de estas sustancias son las reacciones efectuadas por enzimas endógenas o fúngicas con actividad b-glucosidasa, o antocianidasas, que hidrolizan el enlace glucosídico en posición 3, y producen el correspondiente aglucón, el cual es más inestable que la antocianina de donde proviene, por lo que su degradación es más rápida. Por tener estructuras fenólicas, son atacadas también por fenolasas (Badui Dergal, 2006).

- **Cuantificación de antocianinas**

Los perfiles de antocianinas son distintivos para diferentes frutas, con alguna variación varietal según el producto. El HPLC de fase inversa junto con la detección de matriz de fotodiodos es la herramienta más utilizada para la identificación y cuantificación de antocianinas. Las antocianinas individuales se pueden separar por su polaridad en diferentes momentos y se pueden cuantificar con un patrón externo (cianidin3-glucósido o cualquier patrón de antocianina purificado). Sin embargo, el HPLC puede resultar en una subestimación de la cantidad de antocianina presente en muestras que contienen diferentes glucósidos de antocianidinas cuando se usa un estándar para cuantificación usualmente, se selecciona cianidin-3-glucósido como estándar externo (Lee *et al*., 2017).

2.3.6. Antocianinas Como Colorantes Alimenticios

Las antocianinas se encuentran dentro de los colorantes naturales, por ser responsables de los colores rojos y azules de gran cantidad de frutas y vegetales, proporcionando un gran atractivo en jugos de frutas, mermeladas y conservas, por ello se constituye una buena alternativa como colorantes alimenticios. Sin embargo, estos colorantes son poco utilizados en la industria alimentaria debido

a que son poco estables y difíciles de purificar. Debido a su sensibilidad a los cambios de pH, el uso práctico de estos pigmentos como colorantes naturales se limita a alimentos ácidos con pH inferior a 3,5 (Francis y Markakis, 2009).

- **Las Betalaínas**

Las betalaínas, al igual que las antocianinas, se acumulan en las vacuolas celulares de las flores, frutas y hojas que las sintetizan, principalmente en la epidermis de los frutos en la actualidad la betalaína corresponde a un 75-95% de los pigmentos, y últimamente ha sido motivo de investigación, usándose su color rojo y violeta característico para la formulación de productos cárnicos como alternativa de colorante natural ya que cuenta con la autorización de FDA (Martínez *et al*., 2016).

- **Los compuestos bioactivos**

Los compuestos bioáctivos tienen un efecto protector efecto basado en la actividad antioxidante, con secuestro de radicales libres, inhibición del peróxido de hidrogeno producción y activación de defensas endógenas mecanismos. (Suárez et al., 2022) Además la fibras como la fructo-oligosacaridos, polisacáridos y oligosacáridos se consideran probióticos relevantes ya que, actúan como reguladores frente a enfermedades crónicas por su baja toxicidad contribuyen a la disfunción gastrointestinal, y también aumentar la absorción de nutrientes y la actividad de cultivos beneficiosos intestinales (de Lima Mendes *et al*., 2019).

- **Antocianos totales, fenoles totales en arándanos**

Los fenoles y antocianinas están correlacionados con la capacidad antioxidante, la capacidad antioxidante es mayor cuando la cosecha del fruto se realiza en estación temprana, disminuyendo en cosecha tardía y condiciones normales de luz. Parte de la capacidad antioxidante en la mayoría de frutos, incluyendo arándanos pueden ser los flavonoides. Este grupo fenólico de bajo peso molecular se encuentra ampliamente distribuido en gran variedad de frutas y vegetales, el incremento en el pH modifica la estructura base de las antocianinas modificando el color del fruto (Barrios, 2007).

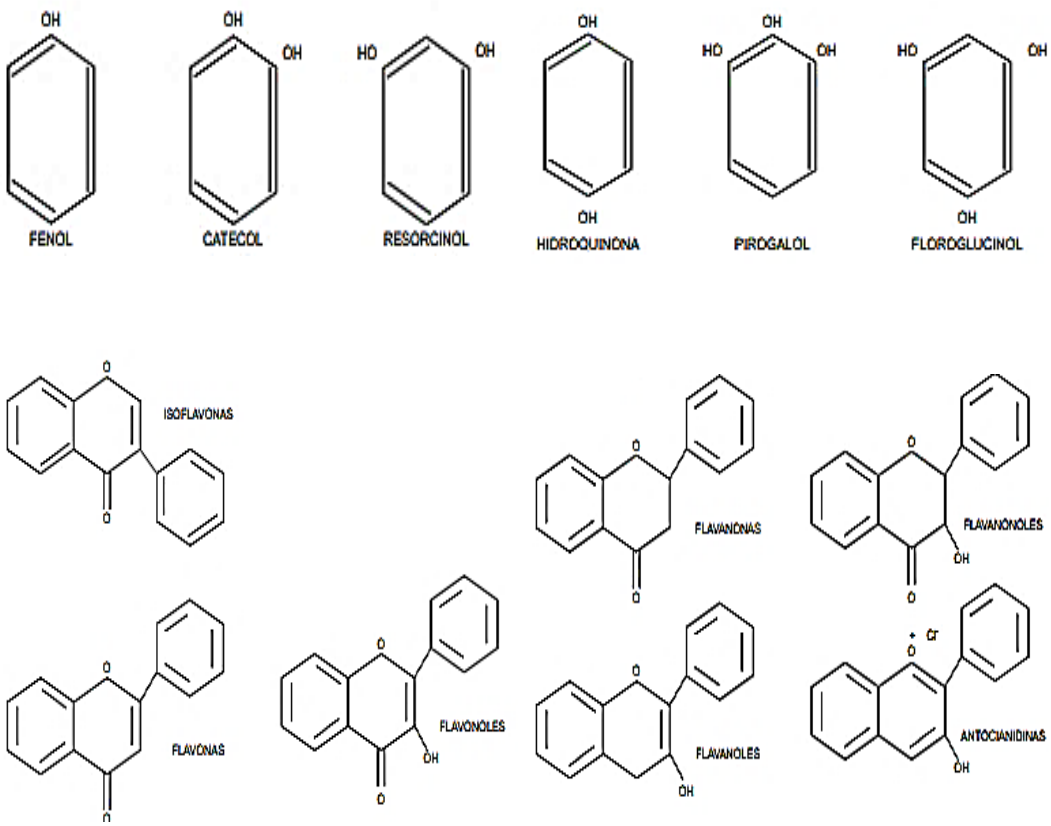


***Figura 8*. Estructura química de tipos de fenoles, polifenoles y flavonoides**

FUENTE**:** Silva (2017)

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. ÁMBITO DE ESTUDIO

3.1.1. Distribuciones Geográficas

La mayor concentración de producción del Ccomayo (*Vaccinium floribundum* Kunth) se encuentra en la comunidad de Pataquitum del distrito de Coasa provincia de Carabaya.

***Figura 9:*Mapa de la provincia de Carabaya-Puno**

FUENTE: http://sige.inei.gob.pe/test/atlas/ (2023).

***Figura 10*: Ubicación geográfica del distrito Coasa**

FUENTE: Google maps (2023).

3.1.2. Lugar de Ejecución

- **Población y muestra**

El fruto Ccomayo (*Vaccinium floribundum* Kunth), fue recolectado de la comunidad de Pataquitum del distrito de Coasa provincia de Carabaya, Departamento de Puno, que se encuentra a 208 (UTM) kilómetros de la ciudad de Juliaca.

- **Desarrollo experimental**

La parte experimental de las propiedades fisicoquímicas y funcionales del fruto Ccomayo (*Vaccinium floribundum* Kunth), se realizó en el laboratorio de la Universidad Nacional de San Antonio Abad de Cusco (UNSAAC).

La extracción de antocianinas del fruto Ccomayo se realizó en el laboratorio de espectofotometría de la Universidad Nacional de San Antonio Abad de Cusco (UNSAAC).

3.2. MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1. Materiales

Para el objetivo Nº1**.**

Para la caracterización de las propiedades fisicoquímicas y funcionales del fruto Ccomayo (*Vaccinium floribundum* Kunth*)* se utilizó los siguientes materiales de laboratorio:

- Crisoles
- Goteros
- Vasos de precipitado
- Papel filtro
- Pinzas metálicas
- Papel aluminio
- Papel toalla
- Placas Petri
- Pipetas
- Embudo buchner

3.2.2. Equipos

- Kjeldahl
- Soxhlet
- Balanza analítica
- Mufla
- Campana desecadora con silicagel
- Manta calefactora

3.2.3. Reactivos

- Agua destilada
- Hidróxido de sodio
- Éter etílico

Para el objetivo Nº2.

Para la determinación de los parámetros (Tiempo, temperatura y pH) de extracción de antocianinas del Ccomayo (*Vaccinium floribundum* Kunth), se utilizaron los siguientes materiales de laboratorio.

3.2.4. Materiales

- Papel toalla
- Pipetas de 10ml
- Goteros
- Vasos de precipitado de 250 ml
- Embudo buchner
- Matraz Erlenmeyer (50ml,100ml)
- Beakers (50ml,100ml)
- Pipetas (5ml,1Oml)
- Micro pipetas (0.5-10O ul, 10-100ul y 100-1000ul)
- Fiolas (1 0,20, 50, 100 y 250ml)
- Embudos de vidrio
- Tubos de ensayo
- Tubo para centrifuga (viales)
- Baguetas
- Mortero
- Papel filtro
- Papel aluminio
- Gradilla
- Algodón
- Papel toalla
- Placas Petri
- Crisoles
- Embudo de decantación
- Pinza de disección
- Cuchara mezcladora
- Piseta

- Jeringa 10ml
- Termómetro

3.2.5. Reactivos

- Etanol 96 % (J.T Baker)
- Agua destilada
- Metanol 99% (J.T Baker)
- Cloroformo (J.T Baker)
- Reactivo de Folin Ciocalteu (Sigma Aldrich)
- Carbonato de sódio (E.Merck)
- Ácido gálico (Sigma Aldrich)
- Ácido acético (J.T Baker)
- Ácido cítrico (E.Merck)
- Hidróxido de potasio (Nequimsa)
- 2,6 Dicloroindofenol (E. Merck)
- Ácido ascórbico (Sigma Aldrich)
- Ácido clorhídrico (J.T Baker)
- Cloruro de potasio 0.025 M (E. Merck)
- Acetato de sódio 0.4 M (E. Merck)

3.2.6. Metodología

3.2.7. Metodología experimental

El método de extracción de antocianinas por el método sólido-líquido se adaptó de (Zapata *et al*. 2014), en la Figura 11 se muestra el proceso de extracción de las antocianinas del Ccomayo (*Vaccinium floribundum* Kunth) con etanol-agua destilada 50/50 y en la Figura 9 se muestra el proceso de extracción de las antocianinas del Ccomayo con extracto acuoso al 100%.

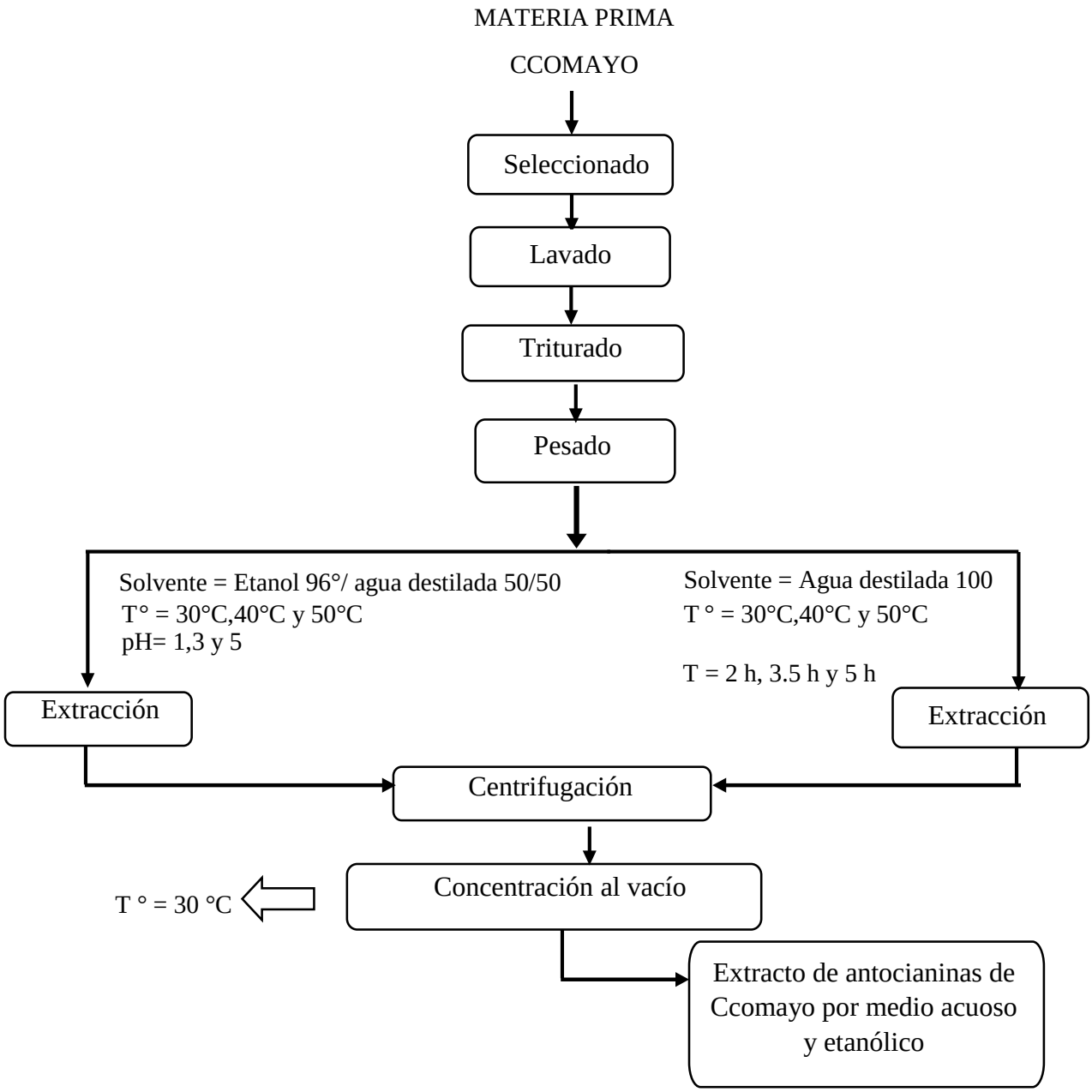


Figura 11*:* Flujograma para la extracción de antocianinas con con etanol 96° C- agua destilada 50/50, agua destilada 100% del Ccomayo (*Vaccinium floribundum* Kunth).

a. Descripción de proceso de extracción de antocianinas utilizando etanol 96°-agua destilada 50/50.

Recolección: El Ccomayo (*Vaccinium floribundum* Kunth), se recolectó del ámbito de la Región Puno, en el distrito de Coasa, se recolecto por el mes de abril, ya que es el momento en el que el fruto ya está en su estado de madurez.

Selección: En esta operación se desarrolló manualmente a fin de descartar frutos con signos de deterioro, daños o con inicios de pudrición.

Lavado: Los frutos fueron lavados, para así eliminar impurezas de la superficie. Para el lavado de los frutos se sumergió en una solución de hipoclorito de sodio por un espacio de 15 minutos.

Triturado: Los frutos se trituraron en un mortero de laboratorio se evitó el contacto con la luz.

Extracción: En la extracción se utilizó como solvente una solución de etanol-extracto acuoso (50:50 %v/v) y etanol 96º, debido a que es un solvente no tóxico y para mejorar la extracción de antocianinas hidrofilias.

Centrifugación: Se realizó a 4200 rpm por un tiempo de 20 minutos para así eliminar el sobrenadante de la muestra y restos de la fruta.

Concentración: Las muestras obtenidas fueron sometidas a una concentración y almacenadas en viales.

b. Descripción de proceso de extracción de antocianinas utilizando como solvente agua destilanda 100%.

Recepción: El Ccomayo (*Vaccinium floribundum* Kunth), se recolectó del ámbito de la Región Puno, en el distrito de Coasa, se recolecto por el mes de abril, ya que es el momento en el que el fruto ya está en su estado de madurez.

Seleccionado: En esta operación se realizó manualmente a fin de descartar frutos con signos de deterioro, daños o con inicios de pudrición.

Lavado: Los frutos fueron lavados para así eliminar impurezas de la superficie como tierra, el proceso será manual, para el lavado de los frutos se sumergió en una solución de hipoclorito de sodio por un espacio de 15 minutos.

Triturado: Los frutos se trituro en un mortero se evitó el contacto con la luz.

Extracción: En la extracción utilizó como solvente de extracción extracto acuoso al 100%.

Centrifugación: Se realizó a 4200 rpm por un tiempo de 20 minutos para así eliminar el sobrenadante de la muestra y restos de la fruta.

Concentración: Las muestras obtenidas fueron sometidas a una concentración y almacenadas en viales.

3.2.8. Metología Experimental

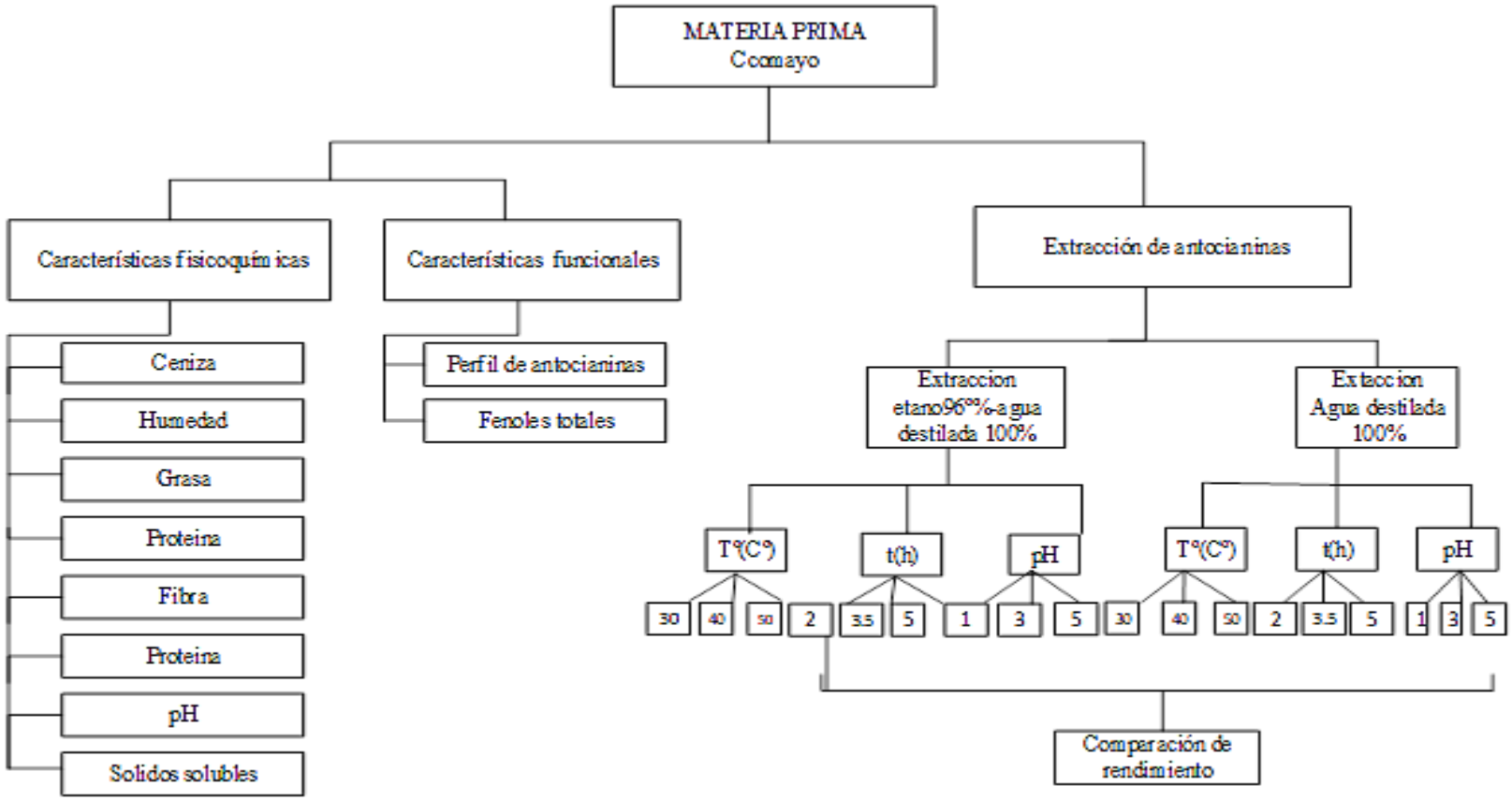


***Figura 10*: Diseño experimental para la caracterización y extracción de antocianinas del Ccomayo (*Vaccinium floribundum* Kunth) por dos métodos.**

Para el objetivo Nº1.

Se determinaron las propiedades fisicoquímicas y funcionales del fruto Ccomayo (*Vaccinium floribundum* Kunth) para ello se trabajó con las variables de estudio a continuación:

a) Variables independientes
    - Ccomayo
b) Variables dependientes
    - Ceniza
    - Humedad
    - Grasa
    - Proteína
    - Fibra
    - Proteínas
    - Solidos Solubles
    - Perfil de antocianinas
    - Fenoles totales
c) Métodos de análisis

Determinación de ceniza

Las cenizas se determinaron mediante calcinación directa, de acuerdo a la metodología recomendada por la (AOAC, 2006).

- Se colocó la cápsula de porcelana limpia en la estufa a 105°C, por media hora y se pesó, siempre empleando pinzas de metal para prevenir la absorción de humedad.
- En una capsula previamente secada, pesada y tarada (m_0), se realizó el pesado de la muestra homogenizada (m1)
- Se precalentó previamente la muestra para evitar la inflación en la estufa, luego se colocó en la mufla para ser incinerada a 550°C por 8 horas, hasta obtener cenizas blancas.
- Se dejó enfriar en la mufla apagada.
- Luego se retiró las muestras de la mufla, se dejó enfriar y finalmente se pesó.

El % de ceniza se calculó aplicando la siguiente fórmula:

$$\%Cenizas\ totales = \frac{m2 - m_0}{m1 - m_0} * 100 \quad (1)$$

Donde:

m2: Masa en gramos de la cápsula con las cenizas.

m1: Masa en gramos de la capsula con la muestra.

m_0: Masa en gramos de la capsula vacía.

Humedad, método de Kjeldahl (AOAC, 2004)

La humedad se determinó por la pérdida de peso de una muestra secada en estufa de vacío a 60ºC hasta alcanzar un peso constante

$$\%\ humedad = \frac{peso\ final\ de\ la\ muestra}{peso\ inicialde\ la\ muestra} * 100 \quad (2)$$

Grasa, método de Soxhlet (AOAC, 2004)

Se efectuó siguiendo el método del Soxhlet, siguiendo el Método AOAC 920.39

Proteína, método (AOAC, 2006)

La proteína se determinó mediante el método de Kjeldahl (AOAC, 2006).

Fibra (AOAC, 2005)

La fibra cruda se cuantifico por hidrólisis ácida y básica (AOAC, 2005).

$$\%\ Fibra\ cruda = \frac{f1 - f2}{W} * 100 \quad (3)$$

Dónde:

$f1$: Es el peso del vaso con el residuo de fibra extraída del extractor y sometida a estufa.

$f2$: Es el peso del crisol + cenizas, después de haber sido incinerado.

W: Es la cantidad de muestra utilizada en el análisis correspondiente.

a. pH

Para la medida del pH se realizó con un pH-metro, previamente calibrado.

b. Solidos solubles

Para la determinación de la cantidad de sólidos solubles se desarrolló por el método refracto métrico. Para ello, se empleó una gota de la mezcla de los frutos triturados en el lector del aparato los resultados se expresan en ºBrix.

c. Perfil de antocianinas

Para obtener el perfil de antocianinas presentes del fruto Ccomayo se purifico el sobrenadante obtenido mediante la extracción con metanol acidificado. Para ello, este último extracto se ubicó en un cartucho C18, limpiado previamente con 1.5 mL de agua destilada. Las antocianinas retenidas en el cartucho fueron diluidas con metanol conteniendo 0.01% de ácido clorhídrico. De igual forma se purifico el EA. La determinación de antocianinas presentes en las muestras se realizó en cromatógrafo *(*Zapata *et al*., 2014).

d. Fenoles totales

Para realizar la determinación de la concentración de fenoles totales se trabajó con la adaptación de la metodología descrita por (Zapata *et al.*, 2014).

Para el objetivo Nº2. Para determinar los parámetros de extracción de antocianinas infligidos por el (Tiempo, temperatura y pH) del Ccomayo (*Vaccinium floribundum* Kunth).

e. Cuantificación de antocianinas

A partir de las muestras previamente molidas se realizó una selección de con mayor contenido de antocianinas totales determinadas por espectroscopía de UV-Vis para su análisis en HPLC. El análisis del perfil de antocianinas y su cuantificación mediante HPLC se realizarón en un cromatógrafo de líquidos, a través del método descrito por con ligeras modificaciones (Hernández *et al.* 2017).

Para el objetivo Nº 2.

Para la extracción de antocianinas del Ccomayo por el método solido-liquido etanol-agua destilada 50/50%, se consideró las siguientes variables.

a. Variable independiente

- Temperatura : 30ºC – 50ºC
- Tiempo : 2 – 5 horas
- pH : 1 - 5

b. Variable dependiente

- Antocianinas
- Perfil de antocianinas

Extracción de antocianinas por el método sólido-líquido (ESLA)

Para la extracción por el método sólido-líquido se adaptó la metodología de (Zapata *et al.*, 2014).

Los frutos se trituraron, donde se tomó una muestra y se determinó la concentración de sólidos solubles y el pH posteriormente; del Ccomayo (*Vaccinium floribundum* Kunth), dos bayas se pesaron en una balanza analítica. Los datos experimentales obtenidos en los diferentes ensayos previstos se determinaron las mejores condiciones de extracción. A partir de esta etapa se trabajó, para cada metodología de extracción, únicamente con el que extracto diluido y se obtuvieron en las mejores condiciones de extracción.

Para la extracción de antocianinas se utilizó los disolventes: mezcla acetona - agua acidificada (50.50 v/v, acidificada 0.1% HCL y 0.2% TCA) y mezcla etanol - agua acidificada (50.50 v/v, acidificada 0.1% HCL y 0.2% TCA). Se pesó 0.7989g, mezclado con el disolvente (con cada una de las mezclas indicados anteriormente) por 15 minutos con agitación continua, en baño de hielo a fin de. reducir la actividad enzimática.

El extracto obtenido del Ccomayo (*Vaccinium floribundum* Kunth), se filtró, para evitar la presencia de sólidos y fracciones de fibras que salen como residuos del proceso de extracción. Del extracto del Ccomayo obtenido de la concentración al vacío, se tomó una alícuota de 1 mL, y se le adicionó cloruro de potasio (KCl) a pH 1 y acetato de sodio (CH3 – COONa).

La mezcla se centrifugó por 10 minutos a 4500 RPM, la torta residual fue re extraído con 10 ml de la disolvente acetona, agua acidificada durante 5 minutos.

Los sobrenadantes (fase acuosa) fueron combinados respectivamente y se trasvasó a una pera de decantación, enseguida se añadió 2 volúmenes de acetona (de acuerdo al volumen del extracto obtenido) y se mezcló suavemente.

Las muestras fueron almacenadas en oscuridad para que la fase acuosa se separe y seguidamente se centrifugó por 15 minutos con el fin de eliminar el exceso de acetona y lo que aun persistió finalmente se eliminó usando un rotavapor Büchii a 40°C a una presión de 4000 Pa hasta obtener \ 5ml, se aforó a un volumen conocido (15ml) con agua acidificada (0.01% HCL), posteriormente se realizó la lectura de absorbancia en el espectrofotómetro a 510 y 700 nm, con los resultados obtenidos se determinó la cantidad de antocianinas en mg/g.

3.4.DISEÑO ESTADÍSTICO

Se utilizó el diseño estadístico de superficie de respuesta Box behnken, y se analizó los datos mediante el software statgraphics centurión a fin de determinar la temperatura, tiempo y pH en función del rendimiento de antocianinas.

Tabla 4:*Valores máximos y mínimos.*

Variables	X1	X2	X3
Tiempo(t)	2 horas	3.5 horas	5 horas
Temperatura (Tº)	30 ºC	40ºC	50ºC
pH	1	3	5

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. CARACTERIZACIÓN DE LAS PROPIEDADES FÍSICO QUÍMICAS Y FUNCIONALES DEL FRUTO CCOMAYO (*VACCINIUM FLORIBUNDUM* KUNTH).

4.1.1. Caracterización de propiedades fisicoquímicas.

Los resultados de la caracterización fisicoquímica del fruto Ccomayo (*Vaccinium floribundum* kunth) se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5: ***Características fisicoquímicas del fruto Ccomayo***

Parámetro	**Valores**	
Humedad	81.2	%
Proteína	0.61	%
Grasa	0.39	%
Ceniza	0.65	%
Fibra	5.92	%
Carbohidratos	17.25	%

En la siguiente Figura 12, se muestra una comparación de las características fisicoquímicas del fruto Ccomayo *(Vaccinium floribundum* kunth).

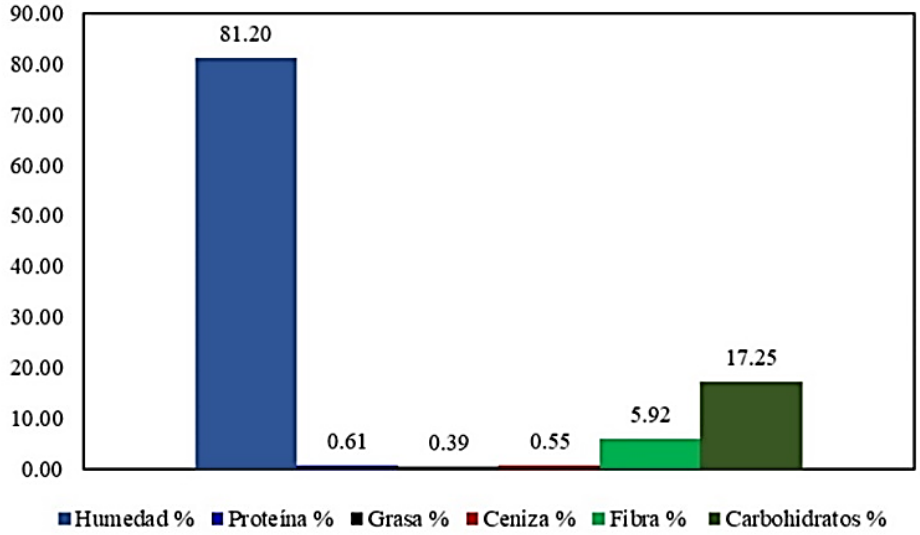


Figura 12: **Gráfico de comparación fisicoquímico del Ccomayo (*Vaccinium floribundum* kunth).**

En la Figura 12, se observa que el fruto Ccomayo (*Vaccinium floribundum* kunth), presenta 81.20 % de humedad, 17.25% de carbohidratos y 5.92% de fibra. En contraste de características fisicoquímicas con el mortiño, arándano y macha macha presentan compuestos similares. El mortiño es un fruto oriundo de Ecuador, en el estudio realizado por Vasco *et al*. (2009) presenta un total de 17% carbohidratos, contenido de humedad 81%, grasa 1%, proteína 0.7% y ceniza 0.4% estos valores son similares a lo reportado en la Tabla 6. Por su parte, Arteaga y Arteaga, (2016) en su estudio a las propiedades fisicoquímicas al arándano reporta humedad de 92%, este valor es superior al presentado en la Tabla 2. Sin embargo, (Huamani, 2017) en su estudio al fruto denominado macha macha informa; 84.760%, ceniza 0.478%, proteína 0.897%, grasa 0.536% y carbohidratos 13.329%. Por otro lado, la mora presenta una humedad relativa de 83.4%, ceniza total de 0.3 g/100, grasa total 0.2 g/100, proteína total 1.2 g/100 y carbohidratos totales 14.9 g/100 (Celis *et al*. 2017), estos valores difieren de las propiedades fisicoquímicas del fruto Ccomayo. La variación puedes cambiar debido al estado de madurez y las condiciones de almacenamiento, la tasa de respiración más alta conduce a cambios más rápidos en la maduración. Por otro lado (Tobón *et al*. 2016) estudio al Agraz (*Vaccinium meridionale* Swartz) y

determino la humedad 87.46%, cenizas 0.08%, grasa total 0.01%, proteína 0.00, carbohidratos 12.48% y calorías totales de 49.98Kcal.

4.1.2. **Propiedades funcionales determinadas en el fruto Ccomayo (*Vaccinium floribundum* kunth).**

En la Figura 13, se observa el perfil de antocianinas del Ccomayo.

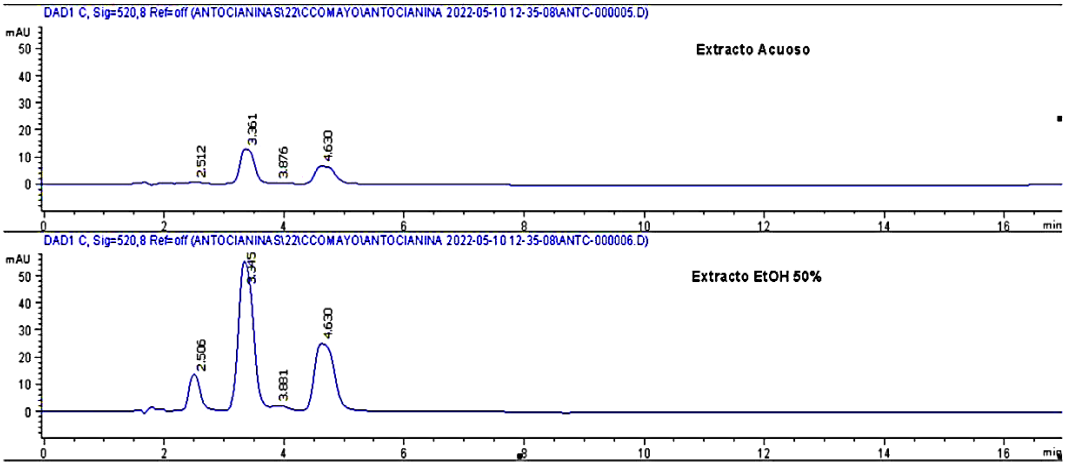


Figura 13: **Perfil de antocianinas del Ccomayo.**

Los picos del cromatograma HPLC que se muestra en la Figura 13 de los frutos del Ccomayo con base a la comparación con los cromatogramas de extractos concentrados de antocianinas de las especies uva y fresa, corridos bajo las mismas condiciones, se identificaron que los espectros UV- corresponden a los estándares de cianidina, indicando la presencia de esta antocianina en los frutos del Ccomayo.

En la tabla 6 se describe el contenido de fenoles totales en el fruto.

Tabla 6:*Contenido de fenoles totales en el fruto Ccomayo.*

MUESTRA	**REP 1**	**REP 2**	**REP 3**	**Fenoles Totales EQ Acido Gálico mg/gr fruto**
Extracto etanólico	217.126	215.943	219.493	217.5206667
Extracto acuoso	195.908	196.552	196.552	196.3373333

Nota:REP: Repetición

Los valores presentes en la Tabla 5 indica que el contenido de fenoles totales se presenta mejor en la muestra del extracto etanolico con un valor de 217.52 de

Ácido Gálico mg/gr, este valor es similar a los resultados reportados por Llivisaca *et al*. (2018) donde indica que el mortiño presenta 229.81 mg equivalentes de ácido gálico/100g de fenoles totales y Barrientos *et al*. (2019) en su estudio realizado a los frutos silvestres, informa que los frutos silvestres presentan contenido de fenoles mostrando valores de 9.44 mg EAG 100/g PS. Sin embargo, los frutos presentan 6.21 mg EAG 100/g PS de fenoles totales, con la misma metodología de Folin Ciolcateu y ácido gálico como estándar. Por otro lado, Garzón *et al*. (2010) en su estudio a *Vaccinium meridionale* Swartz indica que el fruto presenta un contenido fenólico total de 758.6 mg GAE/100g. Por su parte, (Vasco *et al*. 2009) en su estudio al mortiño reporta un contenido de fenoles totales de 882 mg GAE/100g FW. Esta diferencia es porque son frutos físicamente similares, pero de diferentes o composición y se ha informado que los compuestos fenólicos muestran resultados cualitativos y cuantitativa a diferentes niveles genéticos, los fenoles también varían en respuesta a factores ambientales, como la intensidad de la luz y la disponibilidad de nutrientes. Por su parte informa que el arándano presenta 335.95 mg GAE/100g de fenoles totales en un medio solido-líquido y 426.19 mgGAE/100g en un microondas.

En la Figura 14, mediante un gráfico se representa por medio de una caja los compuestos fenólicos totales por tratamiento etanólico.

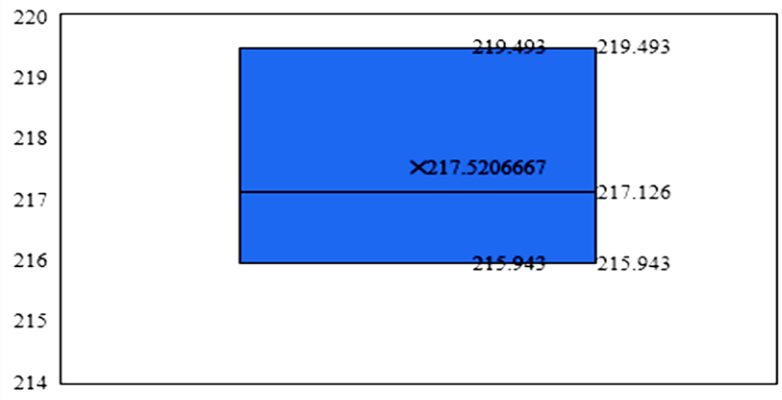


Figura 14: **Gráfico de caja para los compuestos fenólicos totales por tratamiento etanólico.**

En la Figura 15, se muestra mediante un gráfico de caja los compuestos fenólicos totales por tratamiento acuoso.

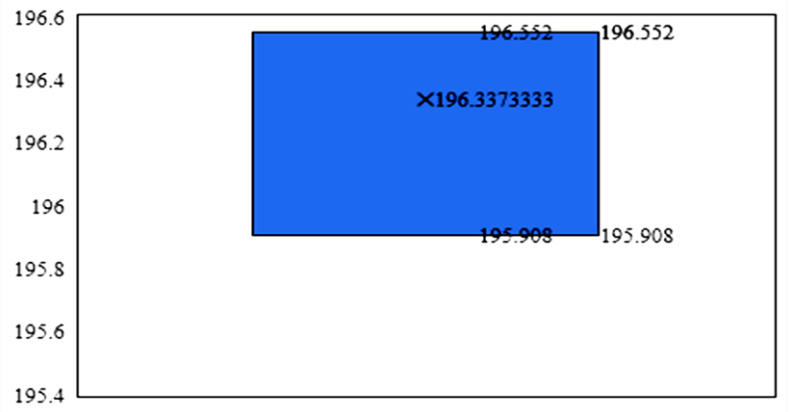


Figura 15: **Gráfico de caja para los compuestos fenólicos totales por tratamiento acuoso.**

4.2. RESULTADOS DE LA DETERMINACI ÓN DE LOS PARÁMETROS DE EXTRACCION DE ANTOCIANINAS DEL CCOMAYO (*VACCINIUM FLORIBUNDUM* KUNTH) INFERIDO POR EL (TIEMPO, TEMPERATURA Y pH).

Las antocianinas son el principal subgrupo de polifenoles responsables del color rosa, rojo, azul o púrpura de muchas frutas y verduras. Las antocianinas bioactivas tienen un interés sustancial (Lee *et al*., 2017). La determinación de antocianinas en el fruto Ccomayo se realizó por extracción en etanol y en medio acuoso, medio por el cual se obtuvo los resultados presentados en la Tabla 7.

Tabla 7: ***Contenido de antocianinas en el fruto Ccomayo (Vaccinium floribundum*** **kunth)*. por método de extracción de etanol y medio acuoso.***

Variables			**CONTENIDO DE ANTOCIANINAS**	
Temperatura (°C)	**Tiempo** (Min)	pH	Extracto Etanólico EQ CyA-3G mg/g fruto	Extracto Acuoso EQ CyA-3G mg/g fruto
30ºC	120	3	4.87	1.79
30ºC	210	5	5.1	0.7
30ºC	210	3	3.23	2.57
30ºC	600	1	6.04	5.78
40°C	120	5	3.44	0.42
40°C	120	1	4.45	3.32
40°C	210	3	4.58	2.7
40°C	210	3	4.15	3.71
40°C	210	3	4.01	5.7
40°C	600	1	4.28	4.53
40°C	600	5	4.11	0.3
50°C	120	3	4.58	1.44
50°C	210	1	3.13	5.56
50°C	210	5	4.16	0.22
50°C	600	3	2.94	1

4.2.1. **Extracción etanolica (96°-agua destilada 50/50 v/v; y acuosa 100%) de antocianinas**

En la Tabla 8 se muestran los resultados experimentales de la concentración de antocianinas por extracción alcohólica y acuosa del Ccomayo (*Vaccinium floribundum Kunth*) mediante el diseño de Box-Behnken conformada de 3 variables, 3 niveles y 3 réplicas en el centro. Las variables estudiadas fueron la temperatura (*T*), tiempo (*t*) y *pH*; y las variables respuesta fueron la

concentración de antocianinas por extracción alcohólica (E_e) y la concentración de antocianinas por extracción acuosa (E_a).

Tabla 8: ***Matriz del diseño de Box-Behnken para la extracción etanólica y acuosa de antocianinas del Ccomayo.***

N°	*T (°C)*	*t (h)*	*pH*	E_e*(mg/g)*	E_a*(mg/g)*
1	30	2	3	4.87	1.79
2	50	2	3	4.58	1.44
3	30	5	3	6.04	5.78
4	50	5	3	2.94	1.00
5	30	3.5	1	3.23	2.57
6	50	3.5	1	3.13	5.56
7	30	3.5	5	5.10	0.70
8	50	3.5	5	4.16	0.22
9	40	2	1	4.45	3.32
10	40	5	1	4.28	4.53
11	40	2	5	3.44	0.42
12	40	5	5	4.11	0.30
13	40	3.5	3	4.58	2.70
14	40	3.5	3	4.15	3.71
15	40	3.5	3	4.01	5.70

Según la Tabla 8, la más alta extracción se alcanzó en el experimento 3 con valores de 6.04 en la extracción por etanol y 5.78 en extracción por medio acuoso, a una temperatura de 30 °C, tiempo de 5 horas y pH 3. Esta combinación de factores proporcionó una alta concentración de antocianinas por extracción con etanol y agua. Sin embargo Arteaga & Arteaga, (2016) en su estudio al arándano de variedad biloxi informa que el fruto presenta 89.62 mg Cianidina 3- Glucosido/100g, por su parte (Llivisaca *et al*., 2018) en el estudio realizado al fruto mortiño, indica que presenta 1095.39 mg/100g, Sin embargo en el

estudio al arándano comparando los métodos de extracción de antocianinas por el método solido líquido y extracción por microondas informa la presencia de antocianinas con un total de 272.69 mgCyn-3-glu/100g y 389.64 mgCyn-3-glu/100g (Housni *et al*., 2018) Además, la antocianina tiene una amplia gama de propiedades funcionalidad activa, incluyendo antiinflamatorio, antioxidante, y antitumoral, y puede reducir el riesgo de enfermedades crónicas.

4.2.2. **Concentración de antocianinas por tratamiento con etanol 96°-agua destilada al 50/50.**

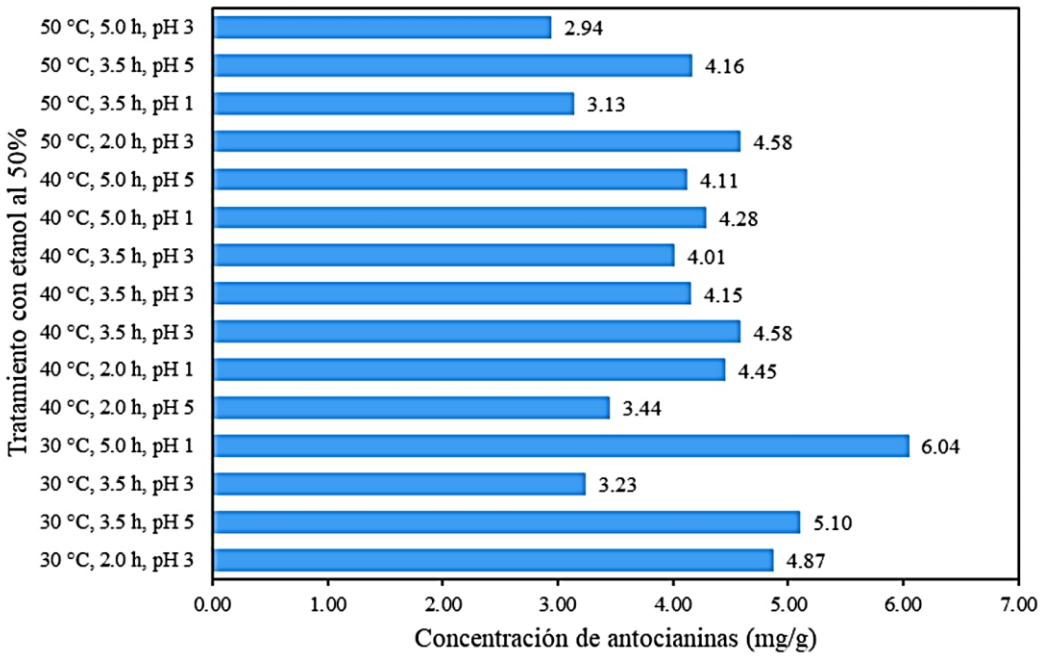


Figura 16: **Gráfico de barras para la concentración de antocianinas por tratamiento con etanol 96º-agua destilada al 50/50.**

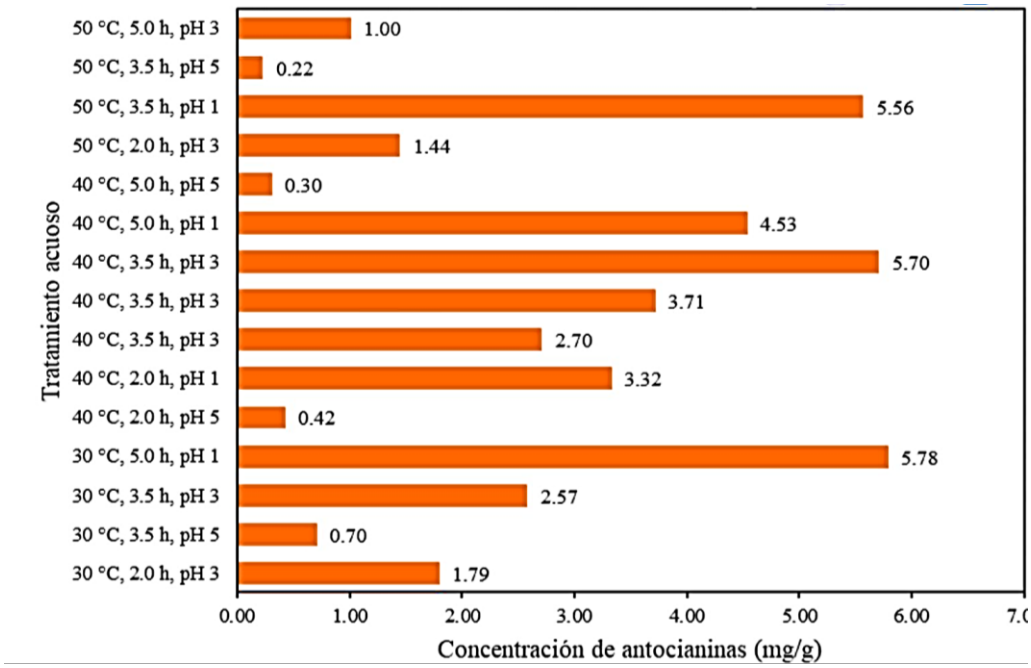


Figura 17: **Gráfico de barras para la concentración de antocianinas por tratamiento con acuoso**.

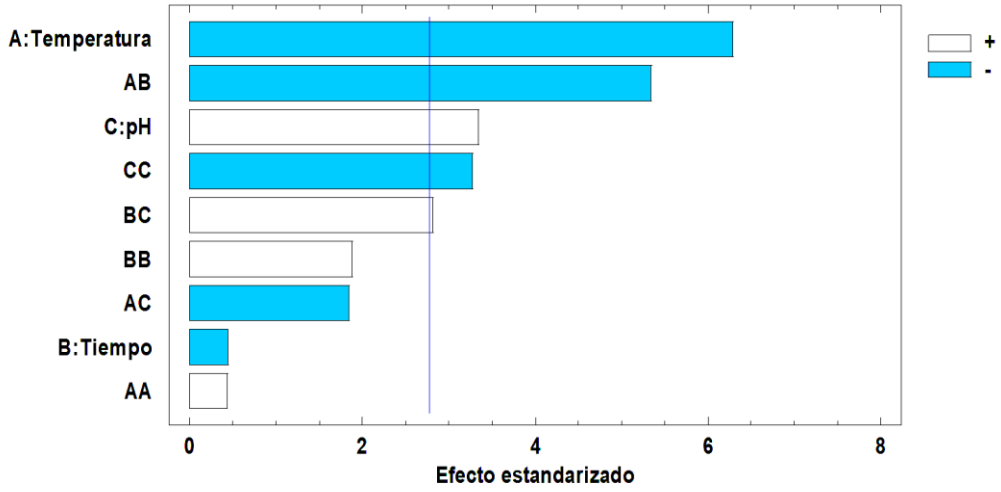


Figura 18. **Diagrama de Pareto estandarizada para cantidad de antocianinas etanol 96° - agua destilada 50/50.**

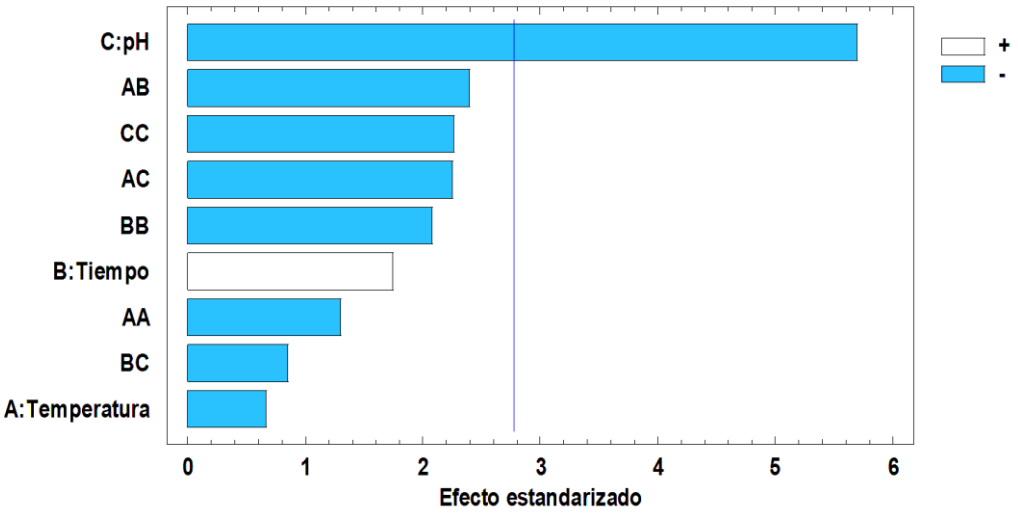


Figura 19. **Diagrama de Pareto estandarizado para la cantidad de antocianinas por extracción acuosa 100%.**

4.2.3. **Estimación de efectos para el proceso de extracción de antocianinas**

El gráfico de los efecto o variables como la temperatura (*T*), tiempo (*t*) y *pH* para el proceso de extracción de antocianinas del Ccomayo se muestran en las Figura 20y Figura 21.

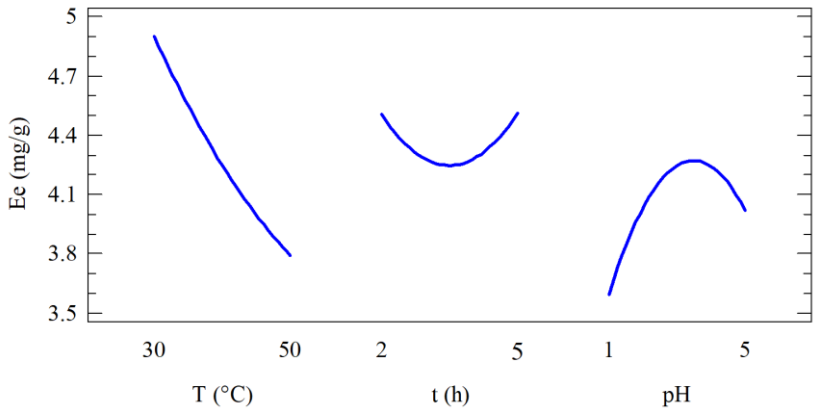


Figura 20: **Gráfica de efectos principales para la concentración de antocianinas (Ee) por extracción alcohólica.**

En la Figura 20 se observa que la temperatura utilizada en la extracción alcohólica de antocianinas del Ccomayo (*Vaccinium floribundum* kunth), es inversamente proporcional a la concentración de la misma, es decir que al incrementar la temperatura de 30 a 50 °C provoca una disminución en la concentración de antocianinas. En relación al tiempo no tuvo significancia en el proceso. El *pH* presento un efecto directamente proporcional en el proceso de

extracción, al incrementar el *pH* de 1 a 5 aumenta también la concentración de antocianinas.

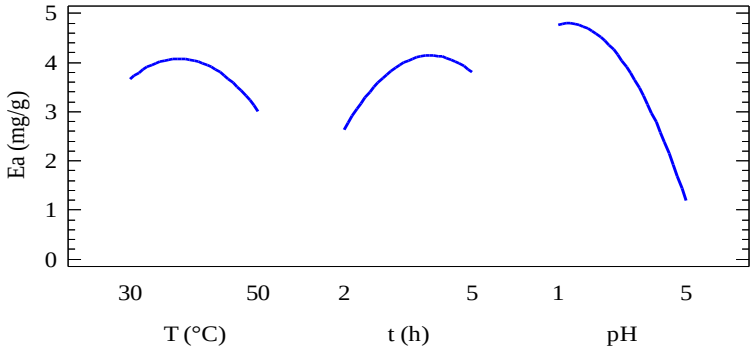


***Figura 21*: Gráfica de efectos principales para la concentración de antocianinas (Ea) por extracción acuosa.**

En la Figura 21 se observa que la extracción acuosa de antocianinas del Ccomayo (*Vaccinium floribundum* kunth), presenta una ligera dependencia de la temperatura siendo esta inversamente proporcional, es decir que al incrementar la temperatura de 30 a 50 °C provoca una leve disminución en la concentración de antocianinas. Así mismo, el tiempo tuvo una ligera significancia en el proceso siendo esta directamente proporcional, al incrementar el tiempo de 2 a 5 aumenta la concentración de antocianinas. El pH fue bastante significativo en el proceso, teniendo una dependencia inversamente proporcional, el aumento de pH de 1 a 5 ocasiono una disminución en la concentración de antocianinas.

4.2.4. **Estimación de interacciones para la concentración de antocianinas**

En las Figura 22 y Figura 23, se presentan las gráficas de las interacciones para la concentración de antocianinas realizadas por extracción alcohólica y acuosa.

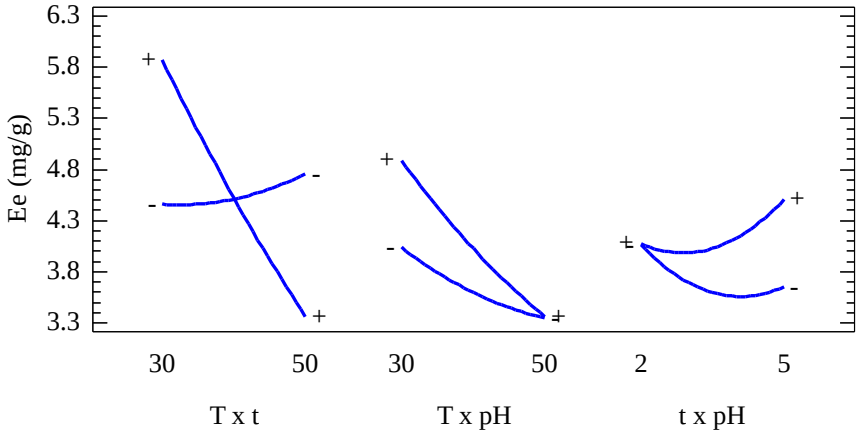


Figura 22: **Gráfica de interacción para la concentración de antocianinas (Ee) por extracción alcohólica.**

En la Figura 22, se observa que existe una fuerte interacción entre la variable temperatura y variable tiempo, esto significa que la temperatura presenta una afectación distinta al interactuar con un tiempo distinto y viceversa. Las interacciones temperatura-pH y tiempo-pH no fueron evidentes o significativas en el proceso de extracción alcohólica de antocianinas. Se debe de señalar que cuando existe interacción entre variables quiere decir que se ejerce una acción o relación reciproca de 2 o más variables. En otras palabras, estas variables suelen tener algo en común o están relacionadas.

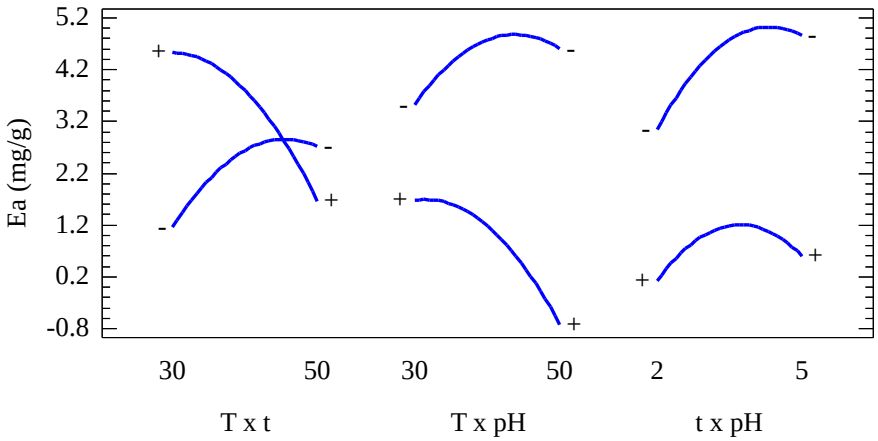


Figura 23: **Gráfica de interacción para la concentración de antocianinas (Ea) por extracción acuosa.**

En la Figura 23, al igual que el proceso de extracción alcohólica de antocianinas, existe una fuerte interacción entre la variable temperatura y variable tiempo, es decir la temperatura presenta una afectación distinta al interactuar con el tiempo.

Por otro lado, las interacciones temperatura-pH y tiempo-pH fueron ligeramente significativas en el proceso de extracción alcohólica de antocianinas.

4.2.5. **Desarrollo del modelo de regresión**

Los resultados obtenidos del Diseño de Box-Behnken fueron ajustados al modelo de regresión de según orden:

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^{k} \beta_i x_i + \sum_{i=1}^{k} \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=2}^{k} \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon \quad (1)$$

En la ecuación (1), *y* es la variable respuesta *x* representa las variables independientes y *β* son los coeficientes del modelo. El modelo de regresión para 3 variables fue:

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_4 x_1^2 + \beta_5 x_2^2 + \beta_6 x_3^2 + \beta_7 x_1 x_2 + \beta_8 x_1 x_3 + \beta_9 x_2 x_3 \quad (2)$$

Para el cálculo de los coeficientes del modelo se transformaron las variables naturales a variables codificadas (-1, 0 y +1) utilizando la siguiente ecuación:

$$x_i = \frac{X_i - X_z}{\frac{\Delta X_i}{2}} \quad , \quad i = 1,2,3 \ldots . k \quad (3)$$

Donde x_i, es el valor adimensional de la variable independiente; X_i, X_z y ΔX_i es el valor real, en el punto central y la razón de cambio del valor de la variable independiente *i* respectivamente.

Los coeficientes del modelo de regresión de segundo orden para la concentración de antocianinas obtenidas por extracción alcohólica y acuosa fueron calculados con el paquete estadístico Design-Expert Versión 7.0.0 las cuales se muestran en la Tabla 9.

Tabla 9:*Coeficientes del modelo de regresión de segundo orden para la concentración de antocianinas obtenidas por extracción alcohólica y acuosa.*

Término	**Coeficiente**	
	E_e	E_a
Intercepto	4.247	4.037
x_1: **T**	-0.554	-0.328
x_2: **t**	0.004	0.580
x_3: **pH**	0.215	-1.792
x_1x_2	-0.703	-1.108
x_1x_3	-0.210	-0.867
x_2x_3	0.210	-0.333
x_1^2	0.098	-0.707
x_2^2	0.263	-0.827
x_3^2	-0.440	-1.067

Reemplazando los coeficientes de la Tabla 9 en la ecuación (2) tenemos los modelos empíricos finales desarrollados en términos de sus variables codificadas.

$$y = 4.247 - 0.554x_1 + 0.004x_2 + 0.215x_3 + 0.098x_1^2 + 0.263x_2^2 - 0.440x_3^2 - 0.703x_1x_2 - 0.210x_1x_3 + 0.210x_2x_3 \quad (4)$$

$$y = 4.037 - 0.328x_1 + 0.580x_2 - 1.792x_3 - 0.707x_1^2 - 0.827x_2^2 - 1.067x_3^2 - 1.108x_1x_2 - 0.867x_1x_3 - 0.333x_2x_3 \quad (5)$$

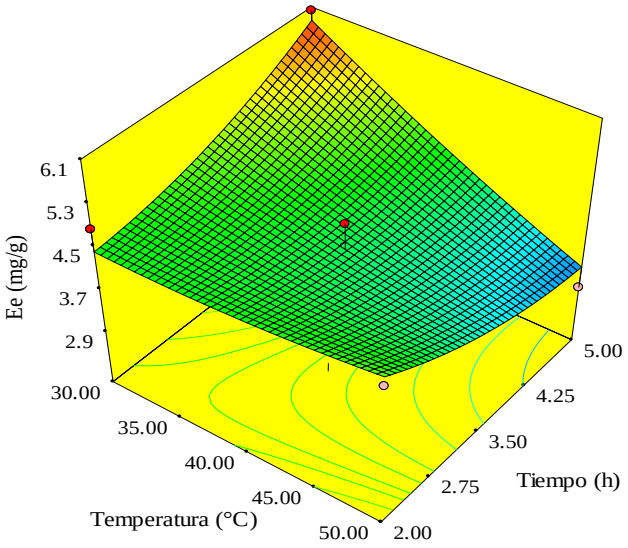
Las ecuaciones del modelo de regresión para la concentración de antocianinas por extracción alcohólica y acuosa en términos de sus variables naturales fueron los siguientes:

$$E_e = 1.058 + 0.062T + 0.848t + 0.942pH + 9.7921x10^{-4}T^2 + 0.117t^2 - 0.110pH^2 - 0.047Tt - 0.011TpH + 0.070tpH \quad (6)$$

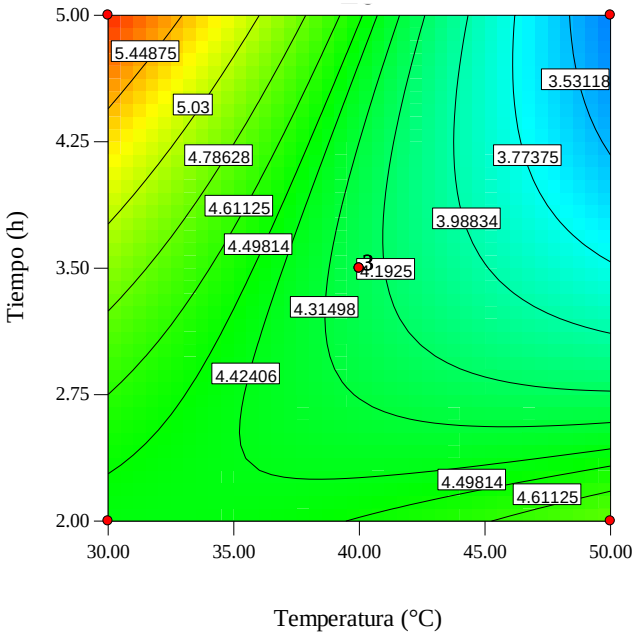
$$E_a = -28.240 + 0.921T + 6.246t + 2.827pH - 7.071x10^{-3}T^2 - 0.368t^2 - 0.267pH^2 - 0.074Tt - 0.043TpH - 0.111tpH \quad (7)$$

4.2.6. **Superficie de respuesta y gráfico de contorno de concentración de antocianinas**

Para los gráficos se utilizó el paquete estadístico Design-Expert Versión 7.0.3. En la Figura 24 se representan las superficies de respuesta y gráficos de contorno de la ecuación (6) para la concentración de antocianinas (E_e) por extracción alcohólica del Ccomayo (*Vaccinium floribundum* kunth).



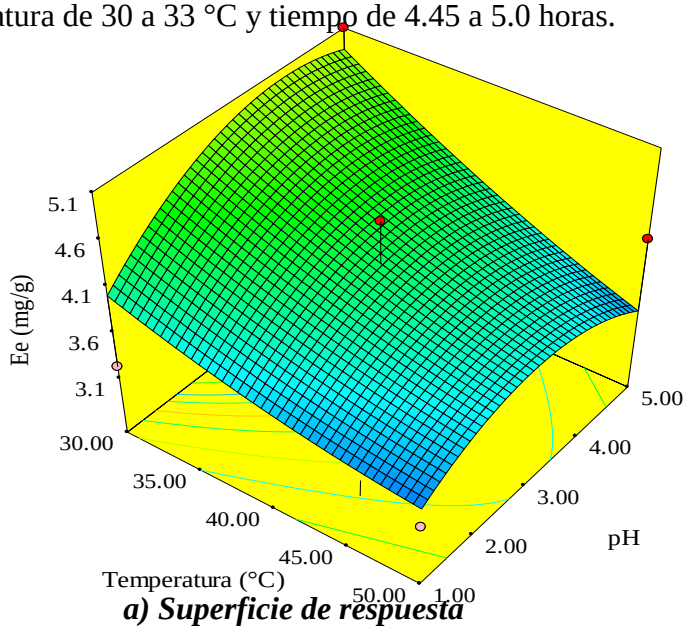
a) Superficie de respuesta



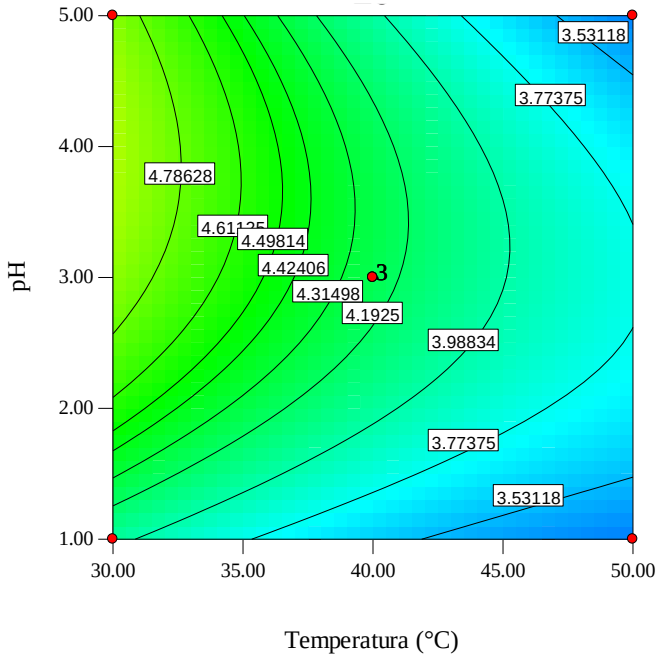
b) Gráfica de contorno

Figura 24: **Efecto de la temperatura y tiempo para la concentración antocianinas (Ce) por extracción alcohólica.**

En la Figura 25 se representa la superficie de respuesta y la gráfica de contorno para la concentración de antocianinas por extracción alcohólica manteniendo constante el pH de 3 en el punto central, en la gráfica de contorno se visualiza que se obtiene una concentración de antocianinas (E_e) igual a 5.45 mg/g en el rango de temperatura de 30 a 33 °C y tiempo de 4.45 a 5.0 horas.



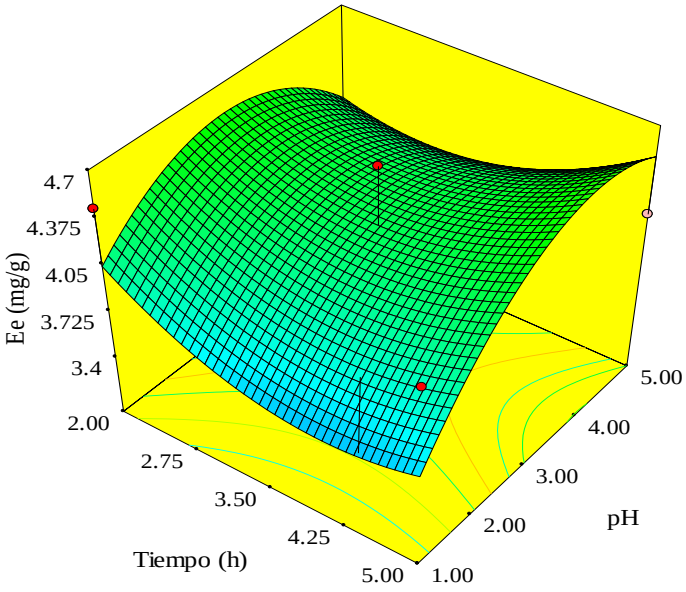
a) Superficie de respuesta



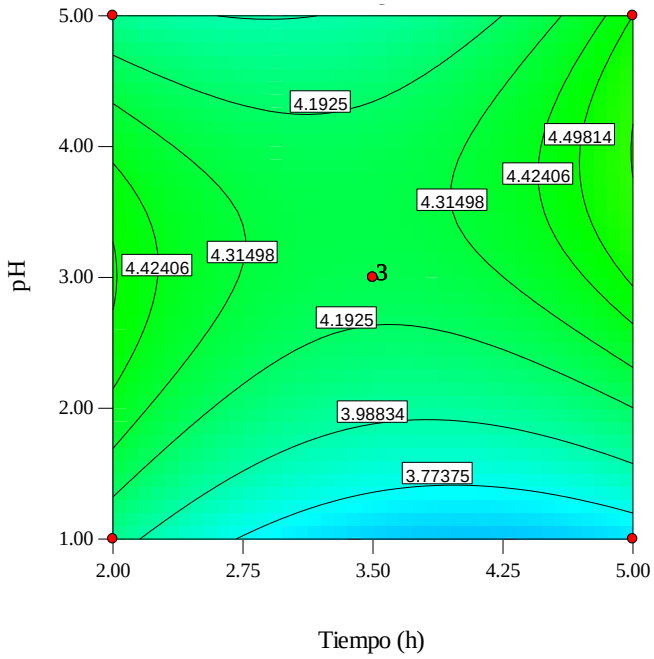
b) Gráfica de contorno

Figura 25: **Efecto de la temperatura y pH para la concentración antocianinas (Ce) por extracción alcohólica.**

En la Figura 25 se muestra la superficie de respuesta y la gráfica de contorno para la concentración de antocianinas por extracción alcohólica manteniendo constante el tiempo de 3.5 horas. Según la gráfica de contorno se observa que se obtiene una concentración de antocianinas (E_e) igual a 4.79 mg/g en el rango de temperatura de 30 a 32 °C y pH de 2.6 a 5.0.



a) Superficie de respuesta

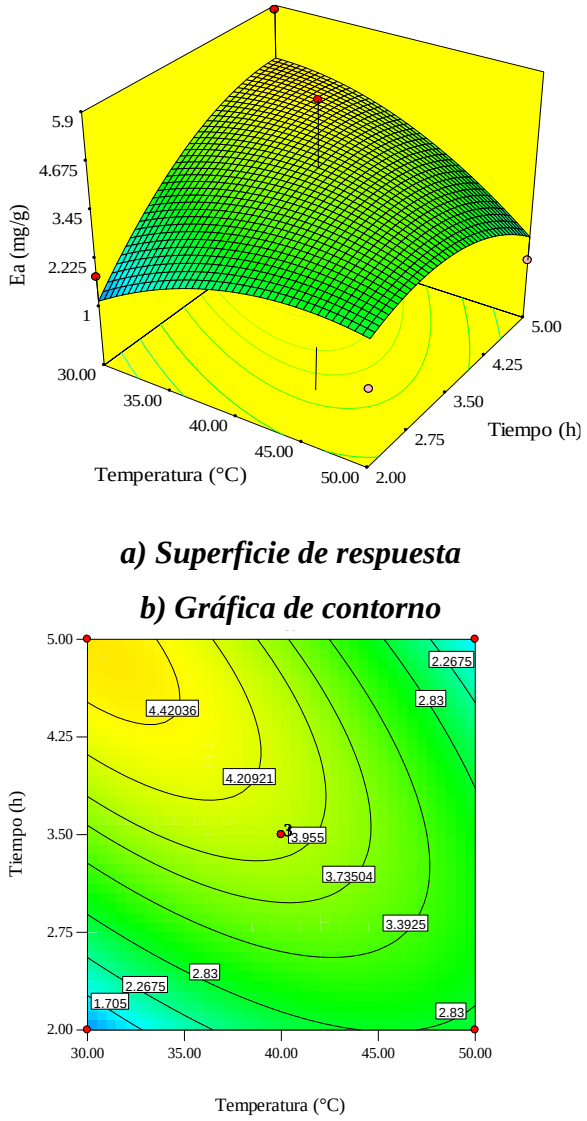


b) Gráfica de contorno

Figura 26: **Efecto del tiempo y pH para la concentración antocianinas (Ce) por extracción alcohólica.**

En la Figura 26 se representa la superficie de respuesta y la gráfica de contorno para la concentración de antocianinas por extracción alcohólica manteniendo constante la temperatura de 40 °C. En la gráfica de contorno se visualiza que se obtiene una concentración de antocianinas (E_e) igual a 4.49 mg/g en el rango de tiempo de 4.65 a 5.0 horas y pH de 3.0 a 5.0.

En la Figura 27 se representan las superficies de respuesta y gráficos de contorno de la ecuación (7) para la concentración de antocianinas (E_a) por extracción acuosa del Ccomayo (*Vaccinium floribundum* kunth).



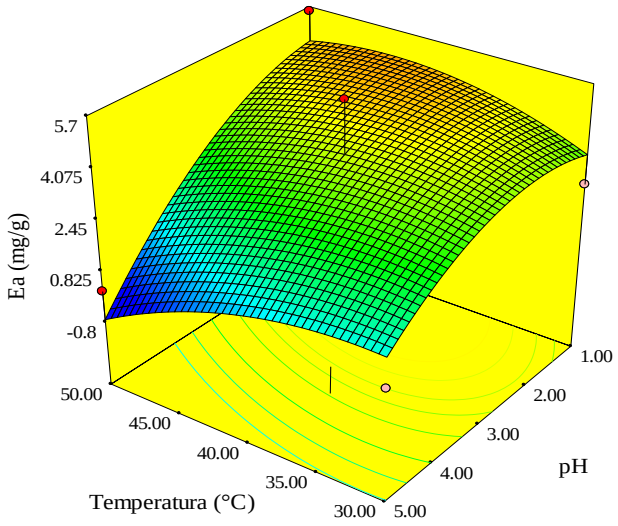
a) Superficie de respuesta

b) Gráfica de contorno

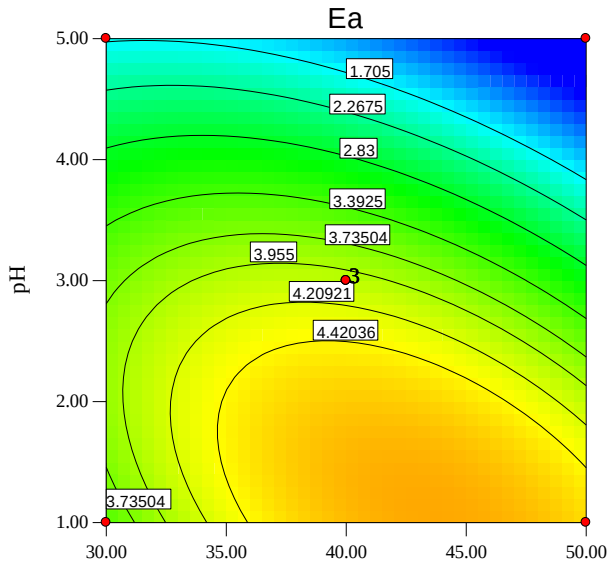
Figura 27: **Efecto del temperatura y tiempo para la concentración antocianinas (Ca) por extracción acuosa.**

En la Figura 27 se muestra la superficie de respuesta y la gráfica de contorno para la concentración de antocianinas por extracción acuosa manteniendo

constante el pH de 3, en la gráfica de contorno se destaca que se obtiene una concentración de antocianinas (E_a) igual a 4.42 mg/g en el rango de temperatura de 30 a 35 °C y tiempo de 4.5 a 5.0 horas.



a) Superficie de respuesta

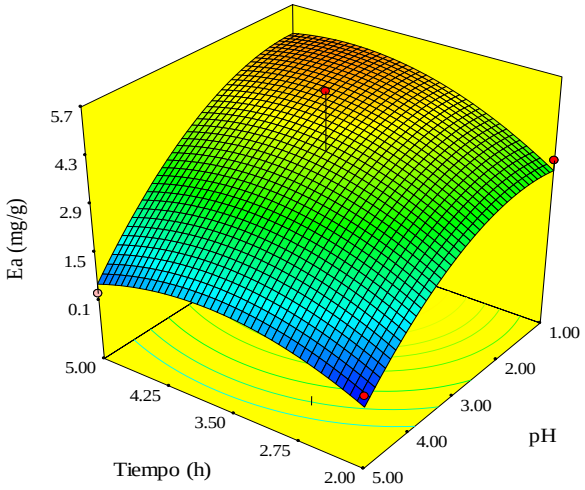


b) Gráfica de contorno

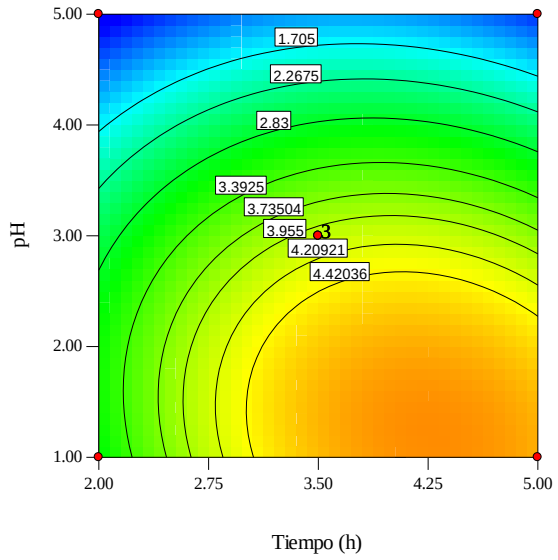
Figura 28: **Efecto del temperatura y pH para la concentración antocianinas (Ca) por extracción acuosa.**

En la Figura 28 se aprecia la superficie de respuesta y la gráfica de contorno para la concentración de antocianinas por extracción acuosa manteniendo constante el tiempo de 3.5 horas. En la gráfica de contorno se visualiza que se obtiene una

concentración de antocianinas (E_a) igual a 4.42 mg/g en el rango de temperatura de 35 a 50 °C y pH de 1.0 a 2.4.



a) Superficie de respuesta



b) Gráfica de contorno

Figura 29: **Efecto del tiempo y pH para la concentración antocianinas (Ca) por extracción acuosa.**

En la Figura 29 se muestra la superficie de respuesta y la gráfica de contorno para la concentración de antocianinas por extracción acuosa manteniendo constante la temperatura de 40 °C. Según la gráfica de contorno se aprecia que se obtiene una concentración de antocianinas (E_a) igual a 4.42 mg/g en el rango de tiempo de 3.0 a 5.0 horas y pH de 1.0 a 2.5.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- Se logró determinar las propiedades físico químicas del fruto Ccomayo (*Vaccinium floribundum* kunth), donde indica que presenta proteínas0.61%, carbohidratos 17.25%, ceniza 0.65%, humedad 81.2%, grasa 0.39% y fibra 5.92% de igual manera se determinaron los compuestos funcionales que corresponden a Fenoles totales que se expresa mejor en la extracción por un medio etanólico con un valor de 217.52 de Ácido Gálico mg/gr a comparación del extracto obtenido y evaluado por un medio acuoso que obtuvo un valor de 196.33 de Ácido Gálico mg/gr. De igual modo se identificó que la antocianina del fruto Ccomayo es la cianidina.
- La extracción solido-líquido de antocianinas del Ccomayo (*Vaccinium floribundum* kunth) dependen de los factores como el solvente, temperatura, pH y tiempo. Por los resultados obtenidos utilizando como solvente etanol 96º -agua destilada 50/50 con parámetros de 30ºC, pH de 1 por un tiempo de 5 horas estos factores resultaron adecuados para una buena concentración de antocianinas la más alta extracción se alcanzó en el experimento 3 con valores de 6.04 en la extracción por etanol y 5.78.
- Al evaluar el rendimiento de las antocianinas totales estas se vieron influenciadas por los factores, temperatura, tiempo de concentración.
- Los resultados concluidos en la tesis demuestran que el fruto Ccomayo tiene un contenido de antocianinas y fenoles totales en su composición lo cual permitiría reemplazar los colorantes sintéticos en la industria alimentaria.

5.2. RECOMENDACIONES

- Realizar investigaciones a partir de los resultados de la presente con enfoques relacionados de antocianinas en donde se pueda sustituir el pigmento artificial por el natural con el fin de obtener productos antioxidantes (como extracto líquido o en polvo).
- Realizar estudios de la cuantificación e identificación de otros compuestos bioactivos que puedan estar presentes en el fruto Ccomayo (*Vaccinium floribundum* kunth).
- Realizar una optimización de las condiciones de extracción de antocianinas del Ccomayo (*Vaccinium floribundum* kunth).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ahmad, A. (2022). Learning about chlorophyll and anthocyanins as potential indicators of plant physiological state. *ReiDoCrea: Revista Electrónica de Investigación Docencia Creativa*, 171–176. https://doi.org/10.30827/digibug.73538

Alcántara, Y. S. T., & Ruiz, J. M. V. (2015). Cinética de la degradación de compuestos fenoles y antocianinas en una bebida funcional a base de arándano azul (Vaccinium corymbosum L.). *Revista Científica INGENIERÍA: Ciencia, Tecnología e Innovación*, *2*(2), 7. http://revistas.uss.edu.pe/index.php/ING/article/view/253/263

AOAC. (2004). Métodos oficiales de análisis de la asociación de químicos analíticos oficiales. En Asociación de Comunidades Analíticas. *Encyclopedia of Grain Science*, *1*(Volume 1), 11–20. https://doi.org/10.1016/b0-12-765490-9/00006-9

AOAC. (2006). *Métodos Oficiales de Análisis de la AOAC INTERNACIONAL*. *February*, 1–96.

Arteaga, A., & Arteaga, H. (2016). Optimization of the antioxidant capacity, anthocyanins and rehydration in powder of cranberry (Vaccinium corymbosum) microencapsulated with mixtures of hydrocolloids. *Scientia Agropecuaria*, *7*(3), 191–200. https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2016.03.05

Ayelen, C., Andrea, P., Marina, L., Zampedri, P. A., Sca, O., & Castagnini, J. M. (2018). Evaluación de la digestión in vitro de compuestos bioactivos de arándanos. *Ciencia, Docencia y Tecnología*, *29*(57), 285–295.

Badui Dergal, S. (2006). Salvador Badui Dergal. In *Química de los alimentos*. http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Libro-Badui2006_26571.pdf

Barragan, M., Aro, J. M., Huamani, V. J., & Cartagena, R. (2018). Antocianinas, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante del mio – mio (Coriaria ruscifolia L). *Revista de Investigaciones Altoandinas*, *20*(4), 419–428.

Barrientos Ramírez, L., Arvizu, M. L., Salcedo Pérez, E., Villanueva Rodríguez, S., Vargas Radillo, J. J., Barradas Reyes, B. A., & Ruiz López, M. A. (2019). Contenido de polifenoles y capacidad antioxidante de Physalis chenopodifolia Lam. silvestre y

cultivo. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, *10*(51), 182–200. https://doi.org/10.29298/rmcf.v10i51.323

Barrios, J. (2007). *"EFECTOS SOBRE LAS CARACTERÌSTICAS FÍSICAS Y QUÍMICAS DE FRUTOS DE ARÁNDANO cv. ELLIOT (Vaccinium corymbosum L) BAJO MALLAJE DE SOMBRA PARA*. 100.

Cano, A. (2011). *Extracción y uso de tres pigmentos naturales a partir de tomate de árbol (solanum betaceum cav.), mortiño (vaccinium myttillus l.) y mora de castilla (rubus glaucus) como alternativa colorante natural para alimentos*. 96. https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/4929/1/T-ESPE-IASA I-004583.pdf

Castro, V. M. (2018). Universidad Nacional De Cajamarca Facultad De Ciencias Agrarias Escuela Académico Profesional De Agronomía. *Universidad Nacional de Cajamarca*, 53 p. http://repositorio.unc.edu.pe/handle/UNC/672%0Ahttp://190.116.36.86/bitstream/handle/UNC/3378/INFORME DE TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Celis, M. E. M., Tobón, Y. N. F., Agudeio, C., Arango, S. S., & Rojano, B. (2017). Andean berry (vaccinium meridionale swartz). *Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry and Human Health: Second Edition*, *2*(October), 869–881. https://doi.org/10.1002/9781119158042.ch40

de Lima Mendes, A. H., Dionísio, A. P., Mouta, C. F. H., de Abreu, F. A. P., Pinto, C. O., dos Santos Garruti, D., & Araújo, I. M. (2019). Sensory acceptance and characterization of yoghurt supplemented with yacon syrup and cashew apple extract as a source of bioactive compounds. *Brazilian Journal of Food Technology*, *22*, 1–11. https://doi.org/10.1590/1981-6723.15318

Del Carpio, C. (2021). COLORANTES NATURALES ANTOCIANICOS EXTRAIDOS DE FRUTOS DE Berberis humbertiana y Berberis boliviana PARA SU USO NATURAL ANTHOCYANIN COLORANTS EXTRACTED FROM Berberis humbertiana y Berberis boliviana FRUITS FOR USE IN YOGURTS. *Rev Soc Quím Perú.*, *87*(4). https://doi.org/10.37761/rsqp.v87i4.358

Francis, F. J., & Markakis, P. C. (2009). Critical Reviews in Food Science and Nutrition Food colorants : Anthocyanins. In *Food Science and Nutrition* (Vol. 28, Issue 4). https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1080/10408398909527503

Garzón, G. A., Narváez, C. E., Riedl, K. M., & Schwartz, S. J. (2010). Chemical composition, anthocyanins, non-anthocyanin phenolics and antioxidant activity of wild bilberry (Vaccinium meridionale Swartz) from Colombia. *Food Chemistry*, *122*(4), 980–986. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.017

Hernández, J. ;, Rosales, A., Molina, A., Miranda, A., Willcox, M., Hernández, J. ;, & Palacios, N. (2017). Cuantificación de antocianinas mediante espectroscopia de infrarrojo cercano y cromatografía líquida en maíz pigmentado [Cuantificación de antocianinas mediante espectroscopía de infrarrojo cercano y cromatografía líquida en maíces pigmentados]. *Revista Fitotecnia Mexicana*, *40*(2), 219–226. https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85021098934&partnerID=40&md5=0afd18dd909f71f8f01b4ed5dc7d77c7

Housni, F. E., Lares, M., Aguilera, V., & Bracamontes, H. (2018). *Revista Mexicana de Trastornos Alimentarios Mexican Journal of Eating Disorders*. *9*(1), 11–23.

HUAMANI, C. M. M. (2017). Estudio del contenido de antocininas y capacidad antioxidante del fruto de Macha Macha (Vaccinium floribundum Kunth) durante la maduracion. In *Repositorio Institucional - UNH*. UNIVERSIDAD NACIONAL DE HUANCAVELICA.

Jurado Dávila, I. V., Cifuentes, D. F., & Hurtado, N. H. (2020). Evaluación de métodos de extracción de las antocianinas del fruto de Eugenia malaccensis y su caracterización por HPLC-ESI-MS. *Revista Cubana de Química*, *32*(1), 45–60. http://eds.a.ebscohost.com.ezproxy.unal.edu.co/eds/pdfviewer/pdfviewer?vid=5&sid=a7803e53-198e-4f9a-9369-f06788c2bcd5%40sdc-v-sessmgr01

Lee, Y. M. ., Yoon, Y., Yoon, H., Park, H. M., Song, S., & Yeum, K. J. (2017). Antocianinas dietéticas contra la obesidad y la inflamación. *Nutrients*, *9*(10), 1–15. https://doi.org/10.3390/nu9101089

Limaymanta, M. L., & Ramos, I. A. (2016). *Extracción y cuantificación de antocianinas*

monoméricas totales del cultivo Macha Macha sp .

Llivisaca, S., Manzano, P., Ruales, J., Flores, J., Mendoza, J., Peralta, E., & Cevallos-Cevallos, J. M. (2018). Chemical, antimicrobial, and molecular characterization of mortiño (Vaccinium floribundum Kunth) fruits and leaves. *Food Science and Nutrition*, *6*(4), 934–942. https://doi.org/10.1002/fsn3.638

Loor, J. (2016). Propuesta Para La Creación De Una Mermelada A Base Del Arándano "Vaccinium Corimbosium" Su Difusión Y Comercialización En La Ciudad De Guayaquil. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, *152*(3), 28. file:///Users/andreataquez/Downloads/guia-plan-de-mejora-institucional.pdf%0Ahttp://salud.tabasco.gob.mx/content/revista%0Ahttp://www.revistaalad.com/pdfs/Guias_ALAD_11_Nov_2013.pdf%0Ahttp://dx.doi.org/10.15446/revfacmed.v66n3.60060.%0Ahttp://www.cenetec.

Luis, J. O. E. (2014). *Universidad nacional de san agustin escuela profesional de ingenieria quimica " determinacion de parametros tecnologicos para la obtencion de un colorante natural de ayrampo (opuntia soherensii) y su aplicación en la obtencion de un alimento a base de h*.

Martínez, J. ;, Martínez, J. ;, Hurtado, L. ;, Cuaran, J. ;, & Ocampo, Y. ; (2016). *PIGMENTOS VEGETALES Y COMPUESTOS NATURALES APLICADOS EN PRODUCTOS CÁRNICOS COMO COLORANTES Y / O ANTIOXIDANTES : REVISIÓN VEGETABLE PIGMENTS AND NATURAL COMPOUNDS APPLIED AS COLORANT AND*.

Meléndez, M. R., Flor, L. E., Vasquez, W. A., & Racines, M. A. (2021). *Composición , condiciones edafoclimáticas , factores bióticos y beneficios*. *12*(1), 109–120.

Parisa, S. ;, Reza, H. ;, Elham, G. ;, & Rashid, J. ; (2007). *Efecto del calentamiento, la irradiación UV y el pH sobre la estabilidad del complejo de antocianinas*. http://docsdrive.com/pdfs/ansinet/pjbs/2007/267-272.pdf

Selung, R., Wasliah, I., & Pratiwi, E. A. (2014). *EFECTO DE LA DOSIS DE IRRADIACIÓN UV-C Y TIEMPO DE ALMACENAMIENTO A 1 °C SOBRE LAS CARACTERISTICAS FISICOQUIMICAS, RECUENTO DE MOHOS Y*

LEVADURAS Y ACEPTABILIDAD GENERAL DE ARÁNDANOS (Vaccinium corymbosum L.) cv. Biloxi. 1–23.

Suárez, D. F. T., Lima, L. L. de A., Stamford, T. C. M., Silva, D. C. da, Santos, T. G., Lima, G. S. de, Padilha, V. M., & Stamford, T. L. M. (2022). Physicochemical and sensorial characterization of yacon mixed juice with bioactive properties. *Ciência Rural*, *52*(6). https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20210140

Tobón, Y. N. F., Rojano, B. A., Arbeláez, A. F. A., Saavedra, D. M. M., & Celis, M. E. M. (2016). Efecto del tiempo de almacenamiento sobre las características fisicoquímicas, antioxidantes y antiproliferativa de néctar de agraz (Vaccinium meridionale Swartz). *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, *66*(4), 261–271.

Vasco, C., Riihinen, K., Ruales, J., & Kamal-Eldin, A. (2009). Chemical composition and phenolic compound profile of mortiño (vaccinium floribundum kunth). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(18), 8274–8281. https://doi.org/10.1021/jf9013586

Zapata, L., Heredia, A., Quinteros, C., Malleret, A., Clemente, G., & Cárcel, J. (2014). Optimización de la extracción de antocianinas de arándanos. *Ciencia, Docencia y Tecnología*, *25*(49), 166–192.

ANEXOS

Anexo 1: Certificado de identificación taxonómica del Ccomayo (*Vaccinium floribundum* kunth).

"Madre de Dios Capital de la Biodiversidad del Perú"
"Año de la Lucha contra la Corrupción y la Impunidad"

CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN

TAXONÓMICA DE ESPECIMENES VEGETALES

Activar Windows
Ve a Configuración para

El que suscribe, **Dr. HERNANDO HUGO DUEÑAS LINARES**, Especialista Forestal en Identificación Taxonómica de especies de flora silvestre, mediante Resolución Directoral N° 054-2017-SERFOR/DGGSPFFS-DGSPF, con Código de Licencia LC-ES-2017-009; del Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre-SERFOR.

CERTIFICA, que los ejemplares (02) presentados por la Srta.: **BACHILLER JUDITH CONDORI MAMANI**, de la Escuela Profesional de Ingeniería de Industrias Alimentarias de la Universidad nacional de Juliaca; para su identificación y/o determinación, para efectos del proyecto de tesis de investigación de tesis intitulada:. **"OPTIMIZACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE EXTRACCION DEL CCOMAYO** *Vaccinium floribundum* Kunth. **POR EL MÉTODO DE EXTRACCIÓN SOLIDO LÍQUIDO Y SU DEGRADACIÓN, EN EL DISTRITO DE JULIACA, PROVINCIA DE SAN ROMAN-DEPARTAMENTO DE PUNO-2019".** Corresponden a los siguientes taxa aceptados oficialmente:

- ✓ *Vaccinium floribundum* Kunth. **FAMILIA ERICACEAE**
- ✓

De acuerdo a la descripción de sus características vegetativas y reproductivas, las que están registrada para la Flora de Perú: Departamento de Madre de Dios; en el Catálogo de Angiospermas y Gimnospermas del Perú de Lois Brako and James L. Zarucchi (1993), al APG IV (Angiosperm Phylogenetic Group, 2016) y en el Taxonomic Name Resolution Service v3.2 (2019). Se expide el presente certificado a solicitud del interesado para los fines que considere conveniente. Se anexa al presente Certificado de Identificación los datos correspondientes a la especie en formato Excel.

Puerto Maldonado, 29 de noviembre de 2019.

Dr. Hugo Dueñas Linares
ESPECIALISTA EN IDENTIFICACIÓN
TAXONÓMICA DE FLORA SILVESTRE
Código LiC-ES-2017-009

Anexo 1: Identificación taxonómica del Ccomayo (*Vaccinium floribundum* kunth).

IDENTIFICACION TAXONOMICA DE ESPECIMENES VEGETALES
NOVIEMBRE , 2019

"OPTIMIZACION DE LOS PARAMETROS DE EXTRACCION DE ANTOCIANINAS DEL CCOMAYO (*Vaccinium floribundum* Kunth.) POR EL METODO DE EXTRACCION SOLIDO-LIQUIDO Y SU DEGRADACION, EN EL DISTRITO DE JULIACA, PROVINCIA DE SAN ROMAN-DEPARTAMENTO DE PUNO-2019"

BACHILLER: Srta. JUDITH CONDORI MAMANI
UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA
ESCUELA PROFESIONAL DE INDUSTRIA ALIMENTARIAS

Nº	NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE COMÚN	FAMILIA	HABITO	HABITAT	ALTITUD	LOCALIDAD	Colector	Fecha Coll	ID	FECHA ID
1	*Vaccinium floribundum* Kunth.	"Ccomayo"	ERICACEAE	Arbusto	Bosque Montano	3783 msnm	Comunidad :Sacco / Sector Pampa Huacupa/Distrito Coasa /Provincia Carabayo	Judith Condori Mamani	27/11/2019	HDL	29/11/2019

Referencias:

Vouchers colección JCM, 27/11/2019

Vouchers Herbario San Marcos (HSM). 2019

Vouchers Herbario MOL, 2019

APG IV. 2016

Taxonomic Resolution Service v 4,0 2019

Vouchers Herbario CUZ, 2019

The Plant List, 2019

Tropicos, Missouri Botanical Garden, 2019

Dr. Hugo Dueñas Linares
ESPECIALISTA EN IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE FLORA SILVESTRE
Código LIC-ES-2017-009

Puerto Maldonado, 29 de Octubre de 2019
Dr. Hugo Dueñas Linares
Especialista en ID Taxonómica de Flora Silvestre
RD N° 054-2017-SERFOR/DGGSPFFS-DGSPF
Código Licencia LC-EC-2017-009

Activar Windows
Ve a Configuración para acti

Anexo 2: Solicitud de autorización con fines de investigación a SERFOR.

SERVICIO NACIONAL FORESTAL Y DE FAUNA SILVESTRE-SERFOR
ADMINISTRACIÓN TÉCNICA FORESTAL Y DE FAUNA SILVESTRE-PUNO
24 NOV 2020
RECIBIDO
Hora: 16:23 Nº Reg:
Folio: Firma:

Solicito: **Autorización con fines de investigación científica de flora y/o fauna silvestre, (con o sin contrato de acceso a recursos genéticos).**

Señora:
Miriam Mercedes Cerdán Quiliano
Director (a) General
Dirección General de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal y de Fauna Silvestre
SERFOR
Presente. -

Yo, Judith Condori Mamani identificado con DNI/PASAPORTE Nº73817262, de nacionalidad peruana con domicilio legal en pasaje cruz verde Nº121 urbanizaciones tres de mayo Distrito Juliaca, Provincia San Román, Departamento de Puno, País Perú, celular 985486614, Correo electrónico judithcondorimamani3@gmail.com, en calidad de representante del Proyecto[1], ante usted respetuosamente expongo:
Que, de conformidad con el (Decreto Supremo Nº 018-2015-MINAGRI que aprueba el Reglamento para la Gestión Forestal / Decreto Supremo N° 019-2015-MINAGRI que aprueba el Reglamento para la Gestión de Fauna Silvestre, *según corresponda*) , solicito se me otorgue una Autorización para realizar investigación científica, fuera de Áreas Naturales Protegidas, con (o sin) colecta (o captura temporal) de flora y/o fauna silvestre, en: Se encuentra en la comunidad de Sacco, sector de Pampa Huacupa del distrito de Coasa provincia de Carabaya Departamento de Puno como parte del Proyecto o Estudio titulado: OPTIMIZACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE EXTRACCIÓN DE ANTOCIANINAS DEL CCOMAYO (*Vaccinium floribundum* Kunth) POR EL MÉTODO DE EXTRACCIÓN SÓLIDO-LÍQUIDO Y EVALUACIÓN DE SU DEGRADACIÓN , por el período comprendido entre marzo del 2020 hasta agosto del 2020, para lo cual cumplo con adjuntar toda la documentación exigida para este efecto.

Por lo expuesto, agradeceré a usted acceder a lo solicitado.

Puno, 24 de noviembre del 2020

.....
Firma

De conformidad con el Art. 20 de la Ley 27444 numeral 20.1.2, el administrado podrá autorizar de manera expresa que adicional a la notificación personal se le notifique mediante telefax, correo electrónico y cualquier otro medio que permita comprobar fehacientemente su acuse de recibo y quien lo recibe.
Correo electrónico y teléfono de contacto nacional:
judithcondorimamani3@gmail.com
Número de celular: 985486614

Se adjunta (Colocar check)
- ☐ Hoja de vida del investigador responsable, Relación de investigadores y Plan de investigación.
- ☐ Carta de presentación de cada participante.
- ☐ Consentimiento informado previo, *de corresponder.*
- ☐ Documento que acredite el acuerdo entre las instituciones que respaldan los investigadores nacionales y extranjeros, en caso la solicitud sea presentada por un investigador extranjero.

[1] De tratarse de una persona jurídica, indicar la razón social y el número de RUC de la entidad u organización solicitante

Anexo 3: Autorización emitida por SERFOR**.**

PERÚ | Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego

SERFOR

Firmado digitalmente por CERDAN QUILIANO Miriam Mercedes FAU 20562836927 soft
Cargo: Directora General
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 23.07.2021 22:51:16 -05:00

"Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres"
"Año del Bicentenario del Perú: 200 años de Independencia"

Magdalena Del Mar, 23 de Julio del 2021

CARTA N° D000842-2021-MIDAGRI-SERFOR-DGGSPFFS

Señora
JUDITH CONDORI MAMANI
Investigadora
pasaje cruz verde Nº121 urbanizaciones tres de mayo
Distrito Juliaca, Provincia San Román
judithcondorimamani3@gmail.com
Puno.-

Asunto : Remito RDG N° D000392-2021-MIDAGRI-SERFOR-DGGSPFFS

Referencia : Solicitud S/N (25/11/2020)

Es grato dirigirme a usted, con relación al documento de la referencia, mediante el cual solicitó la autorización con fines de investigación científica de flora silvestre, como parte del proyecto de investigación titulado: "Optimización de los parámetros de extracción de antocianinas del Ccomayo (Vaccinium floribundum kunth) por el método de extracción sólido-líquido y evaluación de su degradación", a realizarse en la comunidad campesina de Sacco, en el distrito de Coasa, provincia de Carabaya, departamento de Puno.

Al respecto y de acuerdo a lo solicitado, emito para su conocimiento y fines, la Resolución de Dirección General Nº D000392-2021-MIDAGRI-SERFOR-DGGSPFFS (22/07/2021), mediante la cual se resuelve otorgar a su favor la autorización con fines de investigación científica de flora silvestre, en el marco de la excepción indicado en el artículo 154º del Reglamento para la Gestión Forestal, aprobado con Decreto Supremo Nº 018-2015-MINAGRI, fuera de Áreas Naturales Protegidas, correspondiéndole el Código de Autorización N° **AUT-IFL-2021-044**; fuera de Áreas Naturales Protegidas, como parte del proyecto de su tesis titulado: "Optimización de los parámetros de extracción de antocianinas del Ccomayo (Vaccinium floribundum kunth) por el método de extracción sólido-líquido y evaluación de su degradación", a realizarse en la comunidad campesina de Sacco, en el distrito de Coasa, provincia de Carabaya, departamento de Puno; cuya vigencia se contabilizará desde el día siguiente hábil de su notificación.

Sin otro particular, expreso mis cordiales saludos.

Atentamente,

Documento firmado digitalmente

Miriam Mercedes Cerdán Quiliano
Directora General
Dirección General de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal y de Fauna Silvestre
Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre - SERFOR

Exp. N° 2020-0017877

Av. Javier Prado Oeste N° 2442
Urb. Orrantia, Magdalena del Mar – Lima 17
T. (511) 225-9005
www.serfor.gob.pe

BICENTENARIO PERÚ 2021

Esta es una copia auténtica imprimible de un documento electrónico archivado en el Servicio Forestal y de Fauna Silvestre, aplicando lo dispuesto por el Art. 25 de D.S. 070-2013-PCM y la Tercera Disposición Complementaria Final del D.S. 026-2016-PCM. Su autenticidad e integridad pueden ser contrastadas a través de la siguiente dirección web: Url: **https://sgd.serfor.gob.pe/validadorDocumental/** Clave: **YDWFHMB**

Anexo 4: Acta de autorización del vicepresidente de la comunidad de Pataquitum.

ACTA DE AUTORIZACIÓN

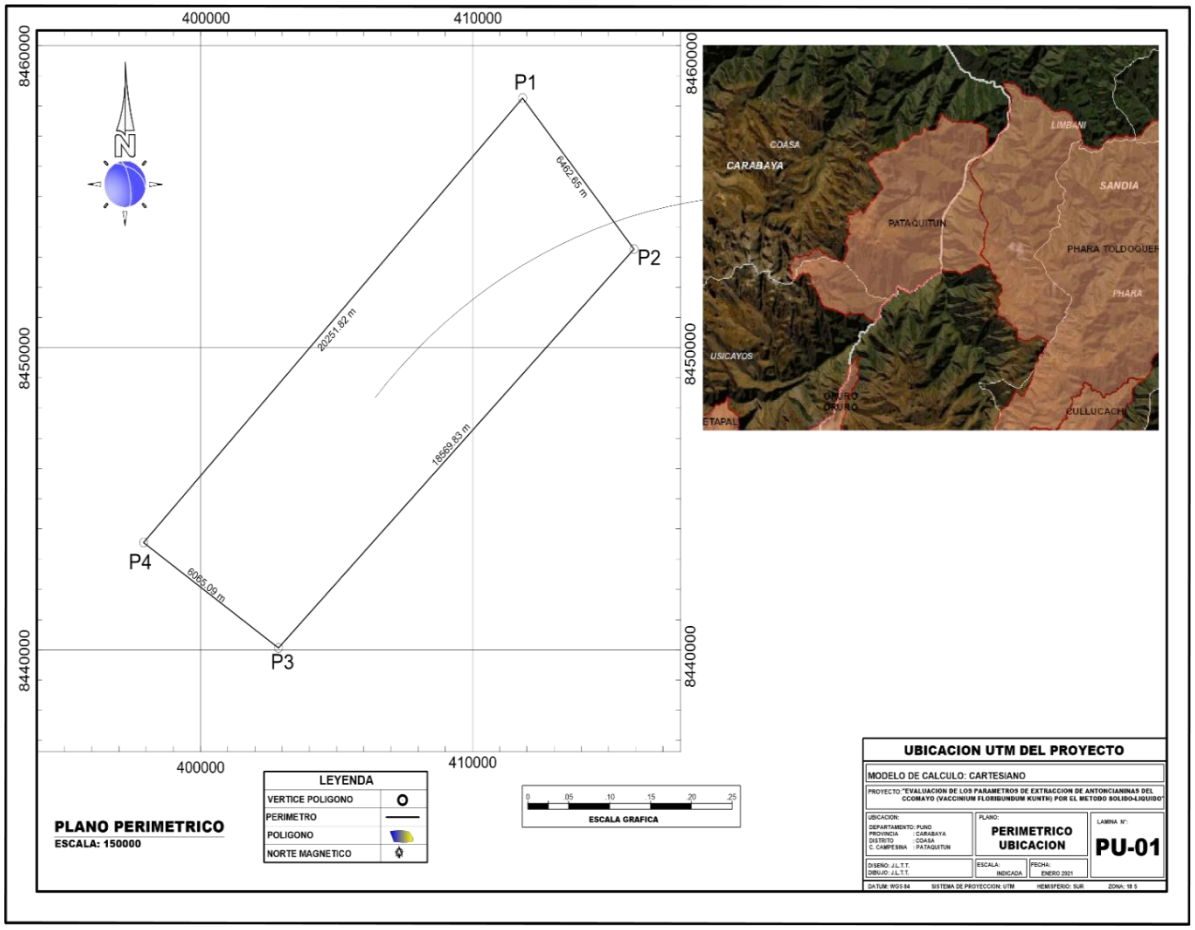
PRESENTE

Yo, OLGER EDER CHUA HUARSOCCA, con Documento Único de Identidad número 44438360, actuando en nombre y representación de la **COMUNIDAD CAMPESINA DE PATAQUITUM,** en mi calidad de **VICEPRESIDENTE** de la misma, por este medio **AUTORIZO A**: Judith Condori Mamani , mayor de edad, con Documento Único de Identidad número 73817262 , para que a nombre de mi representada pueda: realizar la investigación cientifica con el nombre de "OPTIMIZACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE EXTRACCIÓN DE ANTOCIANINAS DEL CCOMAYO (*Vaccinium Floribundum* Kunth) por el método de extracción sólido-líquido y evaluación de su degradación",*para ello se autoriza la colecta del fruto Ccomayo.*

Coasa 15 de diciembre del 2020

OLGER EDER CHUA HUARSOCCA
DNI 44438360
Vicepresidente de la comunidad campesina de pataquitum

Anexo 5: Plano perimétrico de ubicación UTM del proyecto.



Análisis de varianza

En el Anexo 6 se muestran el análisis de varianza que se realizó a los resultados obtenidos de la concentración de antocianinas por extracción alcohólica y acuosa utilizando el paquete estadístico STATGRAPHICS Centurion XVI Versión 16.1.18 para un nivel de probabilidad del 95%.

Anexo 6: Tabla de Análisis de varianza para la concentración de antocianinas por extracción alcohólica 50/50.

Análisis de Varianza para Cantidad antocianinas

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
A:Temperatura	4.18202	1	4.18202	39.52	0.0033
B:Tiempo	0.0203062	1	0.0203062	0.19	0.6840
C:pH	1.18266	1	1.18266	11.17	0.0288
AA	0.0195542	1	0.0195542	0.18	0.6895
AB	3.0258	1	3.0258	28.59	0.0059
AC	0.36125	1	0.36125	3.41	0.1384
BB	0.374539	1	0.374539	3.54	0.1331
BC	0.838513	1	0.838513	7.92	0.0481
CC	1.13644	1	1.13644	10.74	0.0306
bloques	1.49187	1	1.49187	14.10	0.0199
Falta de ajuste	5.51752	15	0.367835	3.48	0.1186
Error puro	0.423333	4	0.105833		
Total (corr.)	18.6942	29			

Optimizar Respuesta

Meta: maximizar Cantidad antocianinas

Valor óptimo = 6.02536

Factor	*Bajo*	*Alto*	*Óptimo*
Temperatura	30.0	50.0	30.0
Tiempo	2.0	5.0	4.99879
pH	1.0	5.0	5.0

Para la evaluación de la significancia de los efectos e interacciones se utilizó el estadístico Fisher (F_0), en la Tabla de puntos porcentuales de la distribución F se tiene que para un nivel de confianza del 95%, grados de libertad del numerador (ν_1) 1 (efectos e interacciones) y grados de libertad del denominador (ν_2) 2 (error total) el estadístico $F_{0.05,1,5}$ es igual a 1.69, realizando las comparaciones se tiene:

- El estadístico $F_{0.05,1,5}$ con los resultados de F_0 calculados de la Tabla 4, se observa que la variable *pH* y la interacción temperatura-tiempo (x_1x_2) fueron significativas es decir $F_0 > F_{0.05,1,2}$.
- Las variables temperatura (T) y tiempo (t) no fueron significativas ($F_0 < F_{0.05,1,3}$). También se destaca que, las interacciones x_1^2, x_2^2, x_3^2, x_1x_3 y x_2x_3 no fueron significativas ($F_0 < F_{0.05,1,3}$).

Anexo 9: Tabla de Análisis de varianza para la concentración de antocianinas por extracción acuosa 100%.

Análisis de Varianza para Cantidad antocianinas

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
A:Temperatura	0.697225	1	0.697225	0.44	0.5429
B:Tiempo	4.80706	1	4.80706	3.04	0.1561
C:pH	51.3014	1	51.3014	32.46	0.0047
AA	2.65477	1	2.65477	1.68	0.2647
AB	9.05251	1	9.05251	5.73	0.0749
AC	7.98001	1	7.98001	5.05	0.0879
BB	6.81748	1	6.81748	4.31	0.1064
BC	1.14005	1	1.14005	0.72	0.4435
CC	8.07705	1	8.07705	5.11	0.0866
bloques	0.61347	1	0.61347	0.39	0.5670
Falta de ajuste	16.9296	15	1.12864	0.71	0.7187
Error puro	6.32187	4	1.58047		
Total (corr.)	114.232	29			

Optimizar Respuesta

Meta: maximizar Cantidad antocianinas

Valor óptimo = 5.06252

Factor	*Bajo*	*Alto*	*Óptimo*
Temperatura	30.0	50.0	44.5468
Tiempo	2.0	5.0	3.84496
pH	1.0	5.0	1.0

Para la evaluación de la significancia de los efectos e interacciones se utilizó el estadístico Fisher (F_0), en la Tabla de puntos porcentuales de la distribución F se tiene que para un nivel de confianza del 95%, grados de libertad del numerador (ν_1) 1 (efectos e interacciones) y grados de libertad del denominador (ν_2) 2 (error total) el estadístico $F_{0.05,1,5}$ es igual a 1.69, realizando las comparaciones se tiene:

- El estadístico $F_{0.05,1,5}$ con los resultados de F_0 calculados de la Tabla 4, se observa que la variable *pH* y la interacción temperatura-tiempo (x_1x_2) fueron significativas es decir $F_0 > F_{0.05,1,2}$.
- Las variables temperatura (T) y tiempo (t) no fueron significativas ($F_0 < F_{0.05,1,3}$). También se destaca que, las interacciones x_1^2, x_2^2, x_3^2, x_1x_3 y x_2x_3 no fueron significativas ($F_0 < F_{0.05,1,3}$).

Anexo 10: Imágenes del proceso de evaluación de los parámetros de extracción de Antocianinas del Ccomayo (*Vaccinium floribundum* Kunth) por el método Solido -Liquido.

Figura 30: Lugar de recolección de materia prima.

Figura 31: **Recolección de materia prima**

Figura 32: Fruto Ccomayo

Figura 33: Bayas de Ccomayo

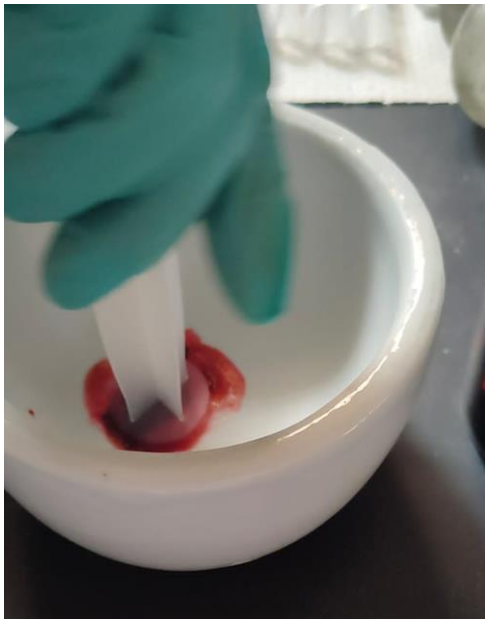


Figura 34: Proceso de trituración del Ccomayo.

Figura 35: Proceso de filtración

Figura 36: Comparación a diferentes solventes

Figura 37: Espectrofotómetro

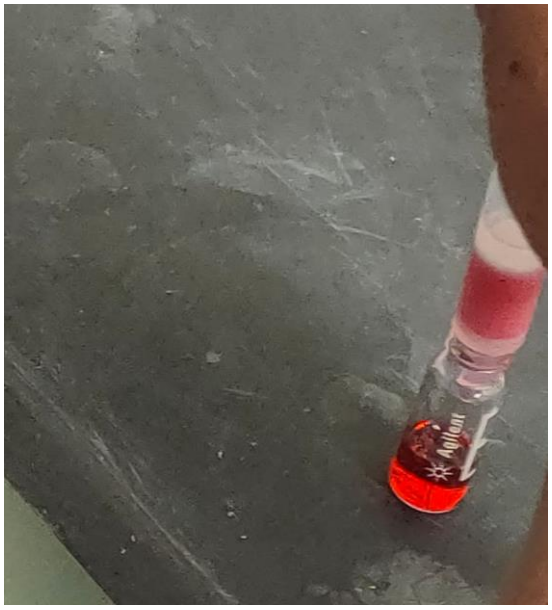


Figura 38: Almacenamiento de antocianinas extraídas

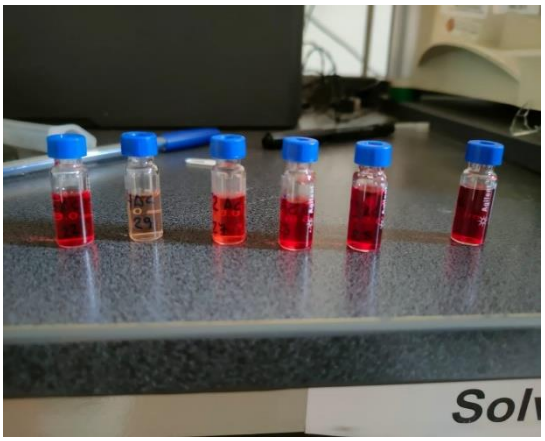


Figura 39: Viales para la evaluación de antocianinas

Figura 40: Soluciones acondicionadas para la extracción solido-liquido.